



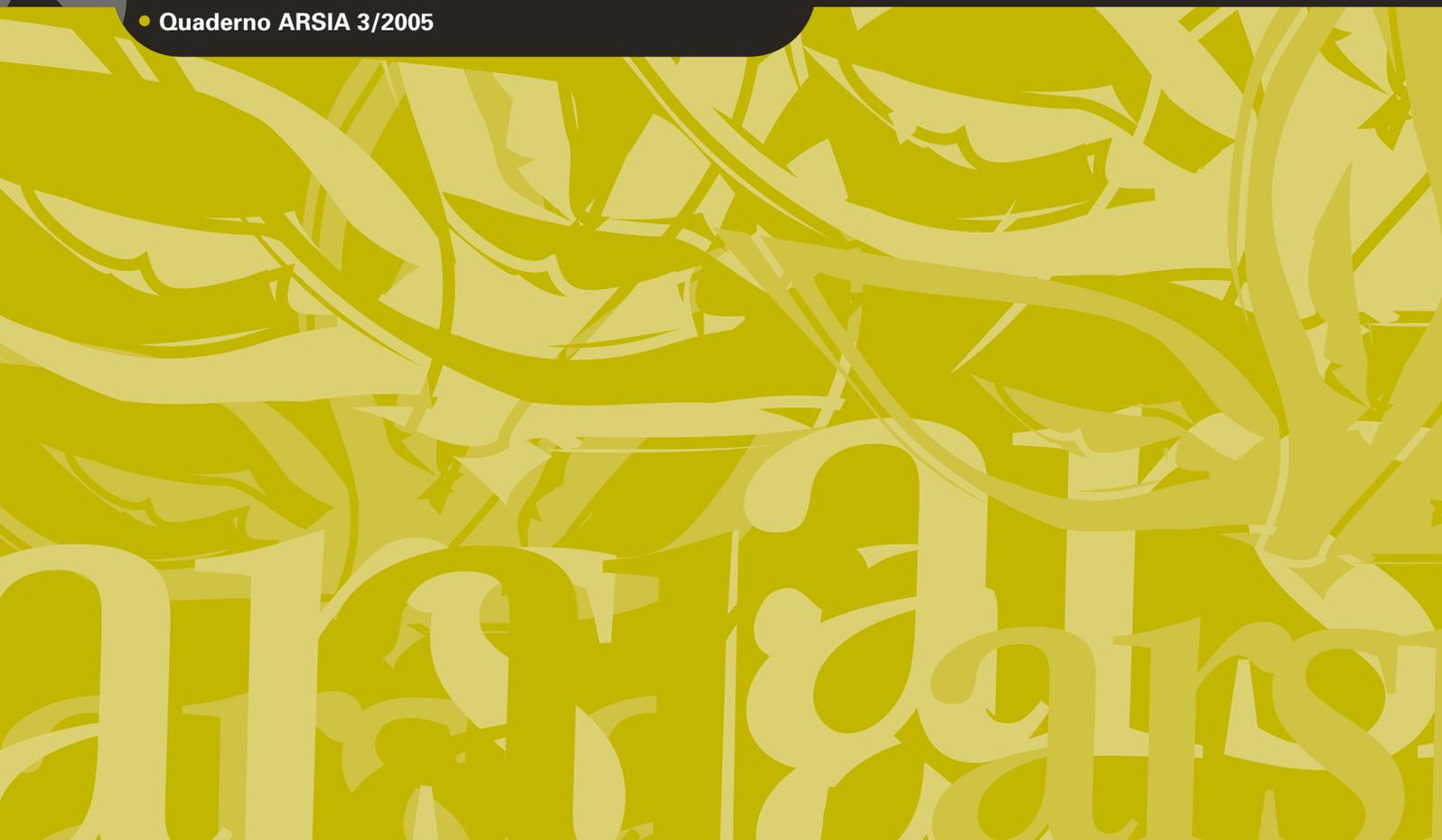
piante, provocata da virus, causata da Malattia  
/dʒal'lu.me/ provocata da Malattia  
/dʒal'lu.me/ **Giallume**  
ato | Materia. 2 Macchia

## Flavescenza dorata e altri giallumi della vite in Toscana e in Italia

arsia



• Quaderno ARSIA 3/2005





• Quaderno ARSIA 3/2005



ARSIA - Agenzia Regionale per lo Sviluppo  
e l'Innovazione nel settore Agricolo-forestale  
Via Pietrapiana, 30 - 50121 Firenze  
tel. 055 27551 - fax 055 2755216/2755231  
[www.arsia.toscana.it](http://www.arsia.toscana.it)  
email: [posta@arsia.toscana.it](mailto:posta@arsia.toscana.it)

*Coordinamento:* Piero Braccini, ARSIA

*Ringraziamenti*

Si ringraziano gli Autori e tutti coloro che hanno gentilmente collaborato alla raccolta delle informazioni necessarie per la stesura di questo Quaderno ARSIA, in particolare il dott. Francesco Pavan e il dott. Roberto Bandinelli.

*Cura redazionale, grafica e impaginazione:*

© LCD srl, Firenze

*Stampa:* Press Service srl, Sesto Fiorentino (FI)

ISBN 88-8295-070-0

© Copyright 2005 ARSIA Regione Toscana



# **Flavescenza dorata e altri giallumi della vite in Toscana e in Italia**

*a cura di*

*Assunta Bertaccini, Piero Braccini*



## Presentazione

Questo Quaderno ARSIA affronta problematiche fitosanitarie della vite di rilevanza nazionale, cioè la Flavescenza dorata e gli altri giallumi della vite. Gli agenti patogeni di tali malattie sono organismi chiamati *fitoplasmi*. La viticoltura regionale è una risorsa economica importante per la Toscana: da qui la necessità di divulgare le attuali conoscenze tecniche su quella che nei prossimi anni potrebbe rivelarsi una seria minaccia per i nostri vigneti.

La flavescenza dorata è, tra le malattie dei giallumi della vite, quella che ha provocato gravissimi danni alla produzione viticola di diverse regioni del Nord Italia. Negli ultimi anni si sta accentuando il rischio di una diffusione della malattia nelle aree viticole dell'Italia centro-meridionale, visto che in alcune di queste regioni ci sono stati rinvenimenti dell'insetto vettore e casi isolati di flavescenza dorata. È quindi importante avere una buona conoscenza della diffusione della malattia e degli aspetti tecnici che la diversificano negli ambienti viticoli italiani.

Questo Quaderno è stato realizzato grazie al contributo di numerosi e qualificati esperti di tutta Italia, coordinati da Assunta Bertaccini e Piero Braccini; in esso sono state affrontate e approfondite tutte le tematiche legate sia agli aspetti generali dei

fitoplasmi e dei loro insetti vettori, sia agli aspetti tecnici specifici riguardanti le due principali malattie, la flavescenza dorata e il legno nero della vite.

Il Quaderno ARSIA 3/2005 si pone l'obiettivo di fornire un approfondito aggiornamento tecnico sulla flavescenza dorata e sugli altri giallumi della vite, in modo da conoscerne le caratteristiche scientifiche, avere gli strumenti per riconoscerli e poter quindi adottare tutte le necessarie misure preventive, sia agronomiche che fitoiatriche.

La pubblicazione contiene la normativa nazionale di lotta obbligatoria alla flavescenza dorata della vite ed è corredata da illustrazioni che riportano anche i sintomi della malattia in diversi vitigni coltivati in Italia. Nel Quaderno, inoltre, è riportata la descrizione particolareggiata di un Progetto di ricerca sulla flavescenza dorata della vite, denominato "I giallumi della vite: un fattore limitante le produzioni vitivinicole", attualmente in corso di realizzazione da parte di diversi centri di ricerca nazionali.

Ci auguriamo che questa pubblicazione possa essere utile in particolare ai tecnici, ai viticoltori e a quanti operano nel settore fitosanitario; ringraziamo tutti gli Autori che, numerosi e con tanta dedizione, hanno contribuito alla sua realizzazione.

Maria Grazia Mammuccini  
*Amministratore ARSIA*



# Sommario

## PARTE PRIMA - LE MALATTIE

<b>1. Storia e diffusione dei giallumi della vite in Italia</b> <i>Giuseppe Belli, Piero Attilio Bianco</i>	11
<b>2. Presenza e diffusione dei giallumi della vite in Toscana</b> <i>Michele Borgo</i>	15
<b>3. Sintomi di fitoplasmosi e differenze con alterazioni imputabili ad altre cause</b> <i>Michele Borgo</i>	17
3.1 Premessa	17
3.2 Sintomatologia	18
3.3 Alterazioni imputabili ad altre cause	30
3.4 Conclusioni	37
<b>4. Attività svolta e programma di monitoraggio dei giallumi e dei loro vettori in Toscana</b> <i>Piero Braccini, Alessandro Paoli, Giovanni Vettori</i>	39
4.1 Premessa	39
4.2 Attività svolta in Toscana di monitoraggio dei giallumi della vite e dei potenziali insetti vettori	39
4.3 Linee di intervento del programma di monitoraggio della flavescenza dorata e dell'insetto vettore <i>Scaphoideus titanus</i>	42

## PARTE SECONDA - I PATOGENI E I LORO VETTORI

<b>5. Fitoplasmi: classificazione e diagnosi</b> <i>Simona Botti, Assunta Bertaccini</i>	47
5.1 Premessa	47
5.2 Filogenesi, tassonomia e classificazione	47
5.3 Metodi diagnostici	49
<b>6. Cicaline dell'agroecosistema vigneto e loro interazioni con la vite nella trasmissione di fitoplasmi</b> <i>Valerio Mazzoni, Alberto Alma, Andrea Lucchi</i>	55
6.1 Premessa	55
6.2 Note di morfologia e di sistematica	56

6.3	Biologia e danni	59
6.4	Riconoscimento, biologia e diffusione dei vettori o potenziali vettori di agenti fitopatogeni su vite	61
6.5	Appendice	72
<b>7.</b>	<b>Flavescenza dorata</b>	75
7.1	Caratteristiche generali ed eziologia della flavescenza dorata <i>Piero Attilio Bianco, Nazia Loi, Marta Martini, Paola Casati</i>	75
7.2	Diagnosi - <i>Piero Attilio Bianco, Nazia Loi, Marta Martini, Paola Casati</i>	76
7.3	Epidemiologia della flavescenza dorata della vite - <i>Luigi Carraro</i>	81
7.4	Misure di controllo - <i>Ruggero Osler</i>	83
7.4.1	Prevenzione e contenimento della flavescenza dorata - <i>Carlo Frausin</i>	84
7.4.2	Controllo della flavescenza dorata attraverso la lotta contro il vettore <i>Scaphoideus titanus</i> Ball - <i>Francesco Pavan, Giorgio Stefanelli, Alberto Villani, Nicola Mori, Gabriele Posenato, Alberto Bressan, Vincenzo Girolami</i>	91
7.5	Conclusioni e prospettive - <i>Ruggero Osler</i>	108
<b>8.</b>	<b>Legno nero della vite</b>	
8.1	Caratteristiche generali ed eziologia del legno nero - <i>Maurizio Conti</i>	117
8.2	Epidemiologia - <i>Alberto Alma, Piero Braccini, Maurizio Conti</i>	121
8.3	Diagnosi di legno nero - <i>Luciana Galetto, Cristina Marzachi</i>	123
8.4	Interventi di lotta - <i>Maurizio Conti, Alberto Alma</i>	127
8.5	Considerazioni conclusive - <i>Alberto Alma, Maurizio Conti</i>	129
<b>9.</b>	<b>La lotta obbligatoria alla flavescenza dorata e al suo vettore</b>	
	<b><i>Scaphoideus titanus</i></b>	
	<i>Marina Barba</i>	135
9.1	Modalità di applicazione del Decreto n. 32442/2000	135
9.2	Caratterizzazione del fitoplasma flavescenza dorata	136
9.3	Monitoraggio di <i>Scaphoideus titanus</i> Ball	137
9.4	La difesa dell'attività vivaistica	137
9.5	Alcune considerazioni di carattere generale	138
<b>10.</b>	<b>PROGETTO DI RICERCA</b>	
	<b>"I giallumi della vite: un fattore limitante le produzioni vitivinicole"</b>	
	<i>Marina Barba, Graziella Pasquini</i>	139
10.1	Il problema	139
10.2	Gli interventi	139
10.3	Il progetto di ricerca	141
10.4	Alcune considerazioni	142
	<b>ATLANTE - Sintomi di fitoplasmosi nei vari vitigni</b>	145
	• Sintomi di fitoplasmosi in Sangiovese	147
	• Sintomi di fitoplasmosi in Chardonnay	149
	• Sintomi fogliari di fitoplasmosi in altri vitigni	151
	<b>Gli Autori</b>	167

## **PARTE PRIMA - Le Malattie**





# 1. Storia e diffusione dei giallumi della vite in Italia

Giuseppe Belli, Piero Attilio Bianco

Sotto la denominazione di giallumi della vite (GY, dall'inglese *Grapevine yellows*) vengono raggruppate quelle ampelopatie che sono causate da fitoplasmi e che si manifestano tipicamente con ingiallimenti o arrossamenti fogliari, scarsa lignificazione dei tralci e disseccamento parziale o totale dei grappoli. 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. Essa si manifestò a metà degli anni cinquanta nella Francia sud-occidentale, e precisamente in Guascogna, dove colpì soprattutto viti dell'ibrido "Baco 22 A" determinandovi danni alla produzione, deperimento vegetativo e vistosi ingiallimenti fogliari con riflessi metallici; da qui il nome di "*Flavescence dorée*" datole da Caudwell (1957) che per primo la descrisse.

Qualche anno più tardi Gärtel (1959) segnalò nei vigneti della valle della Mosella, in Germania, una malattia simile a FD, indicandola con la denominazione di "*Vergilbungskrankheit*" (VK). Poco dopo Schwester *et al.* (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*, chiamandola "*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. Oggi sappiamo

che FD, VK e BN sono fitoplasmosi e che le ultime due sono da considerare manifestazioni, in ambienti diversi, della medesima malattia, nota attualmente in Italia sotto 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 sessanta in vigneti dell'Oltrepò pavese. Questa prima segnalazione italiana, benché effettuata senza il supporto delle tecniche diagnostiche di cui oggi disponiamo, è senz'altro da riferire a FD per i seguenti motivi:

- 1) la malattia comparve improvvisamente, su numerose viti, in vigneti sperimentali clonati, virus-esenti e sottoposti annualmente a dettagliati controlli a scopo di selezione (si trattava pertanto di una forma epidemica);
- 2) il terreno dei suddetti vigneti veniva costantemente lavorato; il che impediva o ostacolava fortemente il possibile insediamento di cicaline non strettamente ampelofaghe, come sono quelle vettrici di altri giallumi;
- 3) in un piccolo vigneto adiacente, non più coltivato e non più sottoposto a trattamenti antiparassitari, venne successivamente riscontrata un'apprezzabile popolazione di *S. titanus* (Osler *et al.*, 1975), probabilmente la stessa che aveva determinato la piccola epidemia, poi prontamente bloccata con opportuni interventi insetticidi.

Negli anni successivi manifestazioni sporadiche di giallume, che interessavano soprattutto la cv Barbera furono osservate in Valtidone (provincia di Piacenza) e in varie province del Piemonte (Belli *et al.*, 1978), sempre in zone nelle quali era in uso mantenere il terreno lavorato ed effettuare uno o due trattamenti contro le tignole: il che spiega la comparsa di piccoli focolai di FD che poi si spe-

gnevano in seguito sia all'eliminazione del vettore dovuta ai suddetti trattamenti insetticidi, sia al verificarsi di frequenti casi di "recovery", ossia di apparente guarigione (Belli *et al.*, 1978).

Questi primi casi di giallume, verificatisi in Italia fra la fine degli anni sessanta e l'inizio degli anni settanta, sono quasi sicuramente ascrivibili a FD per i motivi già detti e fanno pensare che ci sia stato un graduale avanzamento dell'infezione verso est a partire dalla Francia meridionale, determinato da analogo lento ma progressivo avanzamento di piccole popolazioni del vettore.

In effetti *S. titannus*, ormai ben noto come vettore di FD nella Francia meridionale (Schwester *et al.*, 1961), fu rinvenuto da Vidano nel 1964 in vigneti della Liguria occidentale e un decennio più tardi da Osler *et al.* (1975) in vigneti della zona di Voghera (PV). Poiché in quegli anni i nuovi vigneti del Piemonte meridionale e dell'Oltrepò pavese venivano costituiti pressoché esclusivamente con materiale vivaistico italiano, è da pensare che i piccoli focolai di FD fossero determinati da popolazioni del vettore che, benché contrastate dai trattamenti anti-tignola, si andavano lentamente propagando verso est.

Origine diversa sembrano avere le frequenti ed estese manifestazioni di FD e di altri giallumi verificatesi in varie province del Veneto all'inizio degli anni ottanta (Belli *et al.*, 1983; Egger e Borgo, 1983). In quelle zone infatti risultavano inizialmente interessati i vigneti di Chardonnay, spesso costituiti con barbatelle provenienti direttamente dalla Francia e spacciate per Pinot bianco (la cv Chardonnay non era prevista in molti disciplinari di quel tempo). È probabile che attraverso le barbatelle siano arrivate anche le infezioni di FD e le uova del vettore, il quale, ha poi beneficiato di una situazione ambientale estremamente favorevole, creata anche da pratiche consolidate di lotta integrata, che prevedevano l'abolizione di ogni trattamento insetticida. 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 ottanta le segnalazioni di giallumi della vite in Italia si susseguirono con ritmo incalzante, interessando molte regioni viticole. Infatti, oltre a quelle già citate e riguardanti prevalentemente la Lombardia, il Piemonte e il Veneto, vanno ricordate le segnalazioni riguardanti la Sicilia (Granata, 1982), l'Emilia-Romagna (Credi e Babini, 1984), il Friuli-Venezia Giulia (Carraro *et al.*, 1986), il Trentino-Alto Adige (Me-

scalchin *et al.*, 1986), la Toscana (Egger e Grasselli, 1988), la Liguria (Minucci *et al.*, 1994), la Puglia (Di Terlizzi *et al.*, 1994).

Ovviamente, gran parte delle citate segnalazioni 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 che vi erano associati. Tuttavia il ritrovamento di popolazioni più o meno consistenti del cicadellide *S. titannus* 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 intravedere l'assenza di FD in questa parte del Paese.

Nel corso degli anni novanta le conoscenze sulla situazione dei giallumi della vite in Italia andarono man mano chiarendosi e ciò sia grazie all'utilizzo di affinate tecniche sierologiche (Caudwell e Kuszala, 1992), sia – e soprattutto – grazie all'introduzione dei metodi molecolari per lo studio del DNA dei patogeni coinvolti (Davis *et al.*, 1992; Prince *et al.*, 1993; Bianco *et al.*, 1993). In particolare, di notevole aiuto sono state dapprima l'ibridazione molecolare e in seguito la PCR (*Polymerase Chain Reaction*), seguita dal saggio RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*): applicando queste ultime metodologie si poté non solo accertare con sicurezza la presenza o meno di fitoplasmi nei tessuti delle viti in esame, ma si poté anche individuare la specie di fitoplasma infettante, pervenendo così a una chiara distinzione fra casi da attribuire a FD (perché associati a fitoplasmi del gruppo ribosomico I6SrV) e casi da attribuire invece a LN (in quanto associati a fitoplasmi del gruppo I6SrXII) 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 dire 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) 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 italia-

ne (Marzachì e Galetto, 2004). Si tratta per lo più di infezioni miste nelle quali, accanto ai fitoplasmi agenti di FD oppure di LN, ne sono stati riscontrati altri, come quelli appartenenti al gruppo 16SrI (in diverse regioni italiane) o quelli appartenenti ai gruppi 16SrIII e 16SrX (molto meno frequenti). 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 sensibile diminuzione nella frequenza della malattia in quelle regioni dell'Italia settentrionale che avevano subito gravi danni nel corso degli anni novanta; vale a dire, in ordine cronologico: Veneto (Belli *et al.*, 1997; Sancassani *et al.* 1997), Piemonte (Morone *et al.*, 2000) e Lombardia (Belli *et al.*, 2000). Questo importante risultato è dovuto principalmente al fatto che sono stati avviati, nell'ultimo quinquennio, programmi di monitoraggio e contenimento della malattia basati sul controllo del vettore, sul-

l'eliminazione dei focolai e sull'impiego di materiale certificato 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 Ministero per le Politiche Agricole e Forestali, avvenuta il 31 maggio 2000 (D.M. 32442/2000, pubblicato nella Gazzetta Ufficiale n. 159 del 10 luglio 2000). Tuttavia 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 venga 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 sopracitate sono stati ulteriormente sviluppati negli ultimi anni ed è pertanto auspicabile che, in futuro, essi vengano 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.

## 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): 65-76.
- BELLI G., FORTUSINI A., OSLER R., AMICI A. (1973) - *Presenza di una malattia del tipo "flavescence dorée" in vigneti dell'Oltrepò pavese*. *Riv. Pat. Veg., Ser. IV*, 9 (Suppl.): 50-56.
- BELLI G., FORTUSINI A., OSLER R. (1978) - *Present knowledge on diseases of the type "flavescence dorée" in vineyards of Northern Italy*. In: Proc. 6<sup>th</sup> Meeting ICVG, [Cordoba (Spain), 1976], *Monografias INIA n. 18* (1978), 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*. *Inf. agrario*, 39: 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: 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*. *Inf. agrario*, 53 (19): 69-73.
- BELLI G., BIANCO P.A., CASATI P., SCATTINI G. (2000) - *Gravi e diffuse manifestazioni di flavescenza dorata della vite in Lombardia*. *Inf. agrario*, 56 (30): 56-59.
- BERTACCINI A., BOTTI S., TONOLA A., MILANO C., BRACCINI P., SFALANGA A. (2003) - *Identificazione di fitoplasmi di flavescenza dorata in vigneti della Toscana*. *Inf. agrario*, 21: 65-67.
- BIANCO P.A., DAVIS R.E., PRINCE J.P., LEE I.-M., MOGEN B.D., BELLI G. (1993) - *PCR detection of a mycoplasma-like organism (MLO) in flavescence dorée diseased grapevines from Lombardia, Italy*. In: Proc. 11<sup>th</sup> Meeting ICVG [Montreux (Switzerland), September 1993], pp. 90-91.
- CARRARO L., OSLER R., LOI N., REFATTI E., GIROLAMI V. (1986) - *Diffusione nella regione Friuli-Venezia Giulia di una grave malattia della vite assimilabile alla flavescenza dorata*. *Un vigneto chiamato Friuli*, 4 (5): 4-9.
- CAUDWELL A. (1957) - *Deux années d'études sur la flavescence dorée, nouvelle maladie grave de la vigne*. *Annales de l'Amélioration des Plantes*, 4: 359-393.
- CAUDWELL A. (1961) - *Etude sur la maladie du Bois noir de la vigne: ses rapports avec la flavescence dorée*. *Ann. Epiphyties*, 12 (3): 241-262.
- CAUDWELL A., KUSZALA C. (1992) - *Mise au point d'un test ELISA sur les tissus de vignes atteintes de flavescence dorée*. *Res. Microbiol.*, 143: 791-806.

- CREDI R., BABINI A.R. (1984) - *Casi epidemici di giallume della vite in Emilia-Romagna*. Vignevini, 3: 35-39.
- CREDI R., TERLIZZI F., STIMILLI F., NARDI G., LAGNESE R. (2002) - *Flavescenza dorata della vite nelle Marche*. Inf. agrario, 58 (22) : 61-63.
- DAVIS R.E., DALLY E.L., BERTACCINI A., CREDI R., OSLER R., SAVINO V., CARRARO L., DI TERLIZZI B., BARBA M., LEE I.-M. (1992) - *RFLP analyses and dot hybridizations of chromosomal DNA distinguish two mycoplasma-like organisms (MLOs) associated with grapevine yellows disease*. Phytopathology, 82: 242.
- DI TERLIZZI B., CASTELLANO M.A., ALMA A., SAVINO V. (1994) - *Present status of grapevine yellows in Apulia*. Phytopath. medit., 33: 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: 259-266.
- EGGER E., BORGIO M. (1983) - *Diffusione di una malattia virus-simile su "Chardonnay" e altre cultivar nel Veneto*. Inf. agrario, 39: 25547-25556.
- EGGER E., GRASSELLI A. (1988) - *Diffusione in Toscana di una malattia della vite assimilabile alla flavescenza dorata sulla cultivar "Chardonnay"*. Inf. agrario, 44 (11): 101-105.
- 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): 445-446.
- GÄRTEL W. (1959) - *Die Flavescence dorée oder maladie du Baco 22 A*. Weinbau u. Weink., 6: 295-311.
- GRANATA G. (1982) - *Deperimenti e giallume in piante di vite*. Inf. fitopat., 32 (7/8): 18-20.
- MARZACHÌ C., GALETTO L. (2004) - *Le fitoplasmosi della vite*. In: Atti Conv. "La Vite" [Villa Gualino-Torino, 2-3 dicembre 2004], pp. 7.
- MESCALCHIN E., MICHELOTTI F., VINDIMIAN M.E. (1986) - *Riscontrata in alcuni vigneti del Basso Sarca la flavescenza dorata della vite*. Terra Trentina, 32 (9): 36-38.
- MINUCCI C., BOCCARDO G., CONTI M. (1994) - *A severe disease of grapevines in the Italian Riviera associated with mycoplasma-like organisms*. In: Proc. 9<sup>th</sup> Congress of the Mediterranean Phytopathological Union [Kusadasi-Aydin (Turkey), September 1994], pp. 429-431.
- MORONE C., GOTTA P., BOCCARDO G. (2000) - *Sintomi di fitoplasmi in vitigni coltivati in Piemonte: emergenza flavescenza dorata*. Inf. agrario, 56 (23): 69-77.
- NATALINI G., SANTINELLI C., PORCACCHIA C. (2005) - *Bilancio fitosanitario 2004 - Umbria*. Inf. agrario, 61, 15, 49.
- OSLER R., FORTUSINI A., BELLI G. (1975) - *Presenza di Scaphoideus littoralis in vigneti dell'Oltrepò pavese affetti da una malattia del tipo "flavescence dorée"*. Inf. fitopat., 25 (6): 13-15.
- OSTI M., TRIOLO E., LUCCHI A., SANTINI L. (2000) - *La flavescenza dorata nelle Cinque Terre*. Inf. agrario, 10: 89-91.
- PAVAN F., PAVANETTO E., DUSO C. (1987) - *Dinamica di popolazione di Scaphoideus titanus Ball nelle Venezie*. In: Atti Conv. Int. "La Flavescenza dorata della vite" [Vicenza-Verona, 28-29 maggio 1987], pp. 149-155.
- PRINCE J.P., DAVIS R.E., WOLF T.K., LEE I.-M., MOGEN B.D., DALLY E.L., BERTACCINI A., CREDI R., 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: 1130-1137.
- SANCASSANI P., POSENATO G., MORI N. (1997) - *La flavescenza dorata nel Veneto*. Inf. agrario, 53 (10): 65-66.
- SCHVESTER D., CARLE P., MOUTOUS M. (1961) - *Sur la transmission de la flavescence dorée des vignes par une cicadelle*. C. R. Acad. Agric. Fr., 47: 1021-1024.
- VIDANO C. (1964) - *Scoperta in Italia dello Scaphoideus littoralis Ball, cicalina americana collegata alla "flavescence dorée" della vite*. Italia Agricola, 101: 1031-1049.
- VIDANO C., ARZONE A., ALMA A., ARNÒ C. (1987) - *Auchenorrhinchi e diffusione della flavescenza dorata della vite in Italia*. In: Atti Conv. Int. "La Flavescenza dorata della vite" [Vicenza-Verona, 28-29 maggio 1987], pp. 57-68.
- ZELGER F. (1964) - *"Flavescence dorée" eine gefährliche viruskrankheit der rebe auch in Südtirol verbreitet?* Obstbau Weinbau, 2 (1): 6-7.

## 2. Presenza e diffusione dei giallumi della vite in Toscana

*Michele Borgo*

Casi sporadici di deperimenti delle viti per la comparsa dei giallumi (*Grapevine yellows*: GY) erano stati osservati in Toscana nel 1986 sulla varietà Chardonnay, in vigneti piantati nella zona di Manzano-Cortona (Arezzo). In seguito, su segnalazione del professor M. Conti del CNR - Istituto di Virologia Vegetale di Torino, veniva così descritto un grave fenomeno di giallume, comparso in un vigneto di sei anni in provincia di Pistoia (Conti, 1986):

“improvvisi e gravi epidemie da micoplasmi (vecchia terminologia per definire i fitoplasmi) possono verificarsi in seguito a massicce migrazioni di insetti vettori... Nell'anno in corso, ci è stata segnalata una grave epidemia di 'Flavescenza dorata' della vite su vitigni Chardonnay coltivati in Toscana. I rilievi effettuati hanno accertato che la malattia era stata introdotta, in seguito a innesto di marze infette, in altra parte del vigneto. Questa era costituita da cultivar tolleranti, nelle quali il patogeno si era diffuso, senza attrarre l'attenzione dei proprietari del vigneto. Nell'estate 1986, l'apezzamento contaminato da 'Flavescenza' era stato trattato con disseccanti, provocando la migrazione dei vettori, evidentemente infettivi, verso l'area coltivata a Chardonnay, che è cultivar estremamente suscettibile”.

Nel vigneto in questione la malattia interessava circa il 25% delle piante sulla varietà Chardonnay, mentre in misura meno accentuata era presente su Cabernet Sauvignon. Le ipotesi sulle cause scatenanti questo emblematico caso di giallumi prendevano in considerazione sia l'impiego di marze da innesto raccolte da viti probabilmente infette, seppure prive di sintomi, sia la conseguenza delle pratiche agronomiche adottate nel vigneto per il con-

tenimento delle malerbe: l'impiego di erbicidi avrebbe favorito la migrazione, dalle piante erbacee alle viti, di eventuali insetti vettori di fitoplasmi, comunque non di *Scaphoideus titanus*, che all'epoca non risultava ancora presente in Toscana.

Altri casi con sospette manifestazioni di GY venivano individuati in altri vigneti delle colline pisane e nella zona a DOC di Montecarlo (Lucca) sulle varietà Sangiovese e Canaiolo. In un lavoro di indagine, condotto nel biennio 1986-87 e riferito ad alcune aree viticole, emergeva che su Chardonnay, vitigno di recente introduzione in Toscana, la presenza di GY era stata individuata sul 5,33% dei vigneti monitorati (Egger e Grasselli, 1988). L'incidenza della malattia risultava comunque molto bassa e interessava solo poche piante; solo su un vigneto di sei anni, individuato a Pitigliano (Grosseto), il danno risultava molto elevato, in quanto il 21,2% di piante erano sintomatiche. Nello stesso periodo la fitopatia veniva segnalata anche in altri vigneti coltivati a Chardonnay in località Carmignano (Prato) e, in misura minore, sulle cultivar Sangiovese e Trebbiano toscano in alcune aree viticole delle province di Firenze e di Siena.

Casi di GY erano comunque accertati in vigneti dell'Emilia-Romagna e, occasionalmente, del Lazio; non si registrava invece alcuna segnalazione per l'Umbria e le Marche. Le epidemie del tipo legno nero (LN), presenti un po' ovunque, si presentavano con intensità variabile in funzione delle zone viticole e, ancor più, in relazione ai vitigni e alla loro sensibilità a manifestare i sintomi della malattia.

L'esatta eziologia del legno nero venne confermata molto tempo dopo, ricorrendo ai test diagnostici di laboratorio. Nel 1998 campioni di Chardonnay sintomatici, raccolti in vigneti della Toscana e sottoposti ad analisi biomolecolare, risultarono

affetti solo dal fitoplasma appartenente al gruppo ribosomico 16SrXII-A, specifico per il legno nero (Osti e Triolo, 1999; Sfalanga *et al.*, 1999). Anche le successive indagini e le diagnosi biomolecolari, condotte fino al 2001 su materiali viticoli colpiti da giallumi e provenienti da vari vigneti toscani, portavano quindi a concludere che nelle varie zone indagate nel territorio viticolo della Toscana esisteva unicamente la fitoplasmosi del legno nero.

Per gli ambienti viticoli a sud degli Appennini, la flavescenza dorata (FD) ha una storia molto più recente, che merita attenzione per conoscere l'origine dei primi focolai infettivi in Toscana. L'arrivo di FD si ricollega alla presenza di *S. titanus*, che per la prima volta nel 1998 venne individuato in vigneti della provincia di Massa Carrara, anche se in questi casi non erano evidenti sintomi di giallumi (Santini e Lucchi, 1998).

Limitatamente ad altre regioni del Centro Italia, la prima segnalazione di viti affette da GY risale al 2001, allorché in un vigneto di età avanzata e piantato con le varietà Montepulciano e Sangiovese, localizzato nel comune di Montalto Marche (AP), vennero individuate alcune viti con sintomi di giallumi e che risultarono poi affette dal fitoplasma del gruppo 16SrV, tipo FD-C. In tale situazione non venne però dimostrata la presenza del vettore *S. titanus* (Credi *et al.*, 2002). Il fitoplasma identificato è risultato essere simile a quello che, a partire dai primi anni novanta, era presente in provincia di Treviso e che, successivamente, era stato trovato anche in vigneti del Piemonte, della Lombardia e di alcuni comuni occidentali della provincia di Pordenone. Il caso segnalato per il vigneto delle Marche merita una particolare attenzione, in quanto, trattandosi di un vecchio impianto, veniva escluso il rischio di possibili introduzioni del patogeno mediante l'uso di materiali di propagazione viticola contaminati.

Qualche anno dopo anche in Toscana vennero individuati i primi casi di flavescenza dorata; infatti nel corso del 2002 i test molecolari portarono a identificare la presenza del fitoplasma associato a FD in alcuni campioni provenienti da viti ammalate e raccolti in vigneti del comprensorio di Candia, in provincia di Massa Carrara (Bertaccini *et al.*, 2003), ove qualche anno prima era stato trovato il suo vettore *S. titanus*.

A seguito di questo primo rinvenimento di viti affette da flavescenza e della concomitante presenza del vettore, tutta la zona venne sottoposta a monitoraggio per la ricerca di *S. titanus* e per individuare eventuali altri focolai infettivi. Nuovi campioni di viti sintomatiche, raccolti negli anni successivi, confermarono la presenza di FD attorno all'area di primo insediamento della provincia di Massa Carrara. La malattia tuttora risulta presente in maniera puntiforme e non manifesta un comportamento di tipo epidemico, anche in relazione alla circoscritta diffusione di *S. titanus*.

La presenza di fitoplasmi diversi responsabili dei deperimenti e dei giallumi della vite in Toscana non è più storia, ma attualità. La pericolosità di questi patogeni è dovuta alla presenza nel territorio di insetti vettori. La continua espansione di *S. titanus* può favorire il processo di diffusione della flavescenza dorata in ambienti ancora indenni da questa malattia. Pur considerando che attualmente FD si trova ancora in fase endemica, il rischio connesso alla formazione di nuovi focolai infettivi è in continuo aumento e coinvolge maggiormente le zone viticole della Toscana e del Centro Italia, ove fitoplasma e specifico vettore sono entrambi presenti. Tale rischio sarà tanto più prossimo quanto più deboli saranno le misure di prevenzione, che verranno messe in atto su tutto il territorio circostante le aree "focolaio".

## Bibliografia

- BERTACCINI A., BOTTI S., TONOLA A., MILANO C., BRACCINI P., SFALANGA A. (2003) - *Identificazione di fitoplasmi di flavescenza dorata in vigneti della Toscana*. Inf. agrario, 21: 65-67.
- CONTI M. (1986) - *Micoplasmi e altri procarioti intracellulari, agenti fitopatogeni di crescente interesse*. Annali Accad. Agric. di Torino, 127: 1-17.
- CREDI R., TERLIZZI F., STIMILLI G., NARDI S., LAGNOSE R. (2001) - *Flavescenza dorata della vite nelle Marche*. Inf. agrario, 22: 61-63.
- EGGER E., GRASSELLI A. (1988) - *Diffusione in Toscana di una malattia della vite assimilabile alla flavescenza dorata sulla cultivar 'Chardonnay'*. Inf. agrario, 11: 101-105.
- OSTI M., TRIOLO E. (1999) - *Focolai di legno nero della vite in Toscana*. Inf. agrario, 18: 77-78.
- SANTINI L., LUCCHI A. (1998) - *Presenza in Toscana del cicadellide Scaphoideus titanus in due vigneti della provincia di Massa Carrara*. Inf. agrario, 49: 73-74.
- SFALANGA A., BRACCINI P., MURARI E., MARTINI M., PARRINI C., BERTACCINI A. (1999) - *Presenza di legno nero in viti toscane*. Inf. agrario, 11: 99-102.

### 3. Sintomi di fitoplasmosi e differenze con alterazioni imputabili ad altre cause

Michele Borgo

#### 3.1 Premessa

La comparsa di una nuova malattia viene sempre contraddistinta dalla presenza di specifici sintomi che le piante ammalate riescono a mettere in evidenza. Essa risulta maggiormente percepibile all'occhio dell'osservatore quanto più intensa e marcata è la reazione che la pianta è in grado di manifestare. I sintomi sono quindi l'immediata risposta che l'individuo mette in atto attraverso un'azione di causa/effetto e che si esprime con alterazioni di tipo fisiologico. Queste si possono manifestare direttamente sugli organi attaccati e danneggiati dal parassita o anche indirettamente su quelle parti della pianta che subiscono i danni più vistosi, in quanto dotate di maggiore suscettibilità.

La presenza dei giallumi della vite (*Grapevine yellows* = GY) risulta, in genere, di facile percezione, grazie alla peculiarità dei sintomi, che si contraddistinguono chiaramente da quelli causati da altre avversità di tipo biotico e abiotico. Le malattie da fitoplasmi si estrinsecano attraverso varie forme, che vanno dai deperimenti gravi ed estesi a tutta la pianta, alle alterazioni attenuate e circoscritte solo alle foglie di qualche tralcio.

La manifestazione dei sintomi di giallume, osservati su viti dell'ibrido produttore diretto Baco 22 A (foto 1), permise nel 1924 a Ravaz e Verge di attribuire il nome di "*flavescence*" alla nuova malattia che comparve per la prima volta in vigneti del Sud-Ovest della Francia. La definizione di "*flavescence dorée*" (FD) venne attribuita da Levadoux nel 1955 per meglio specificare l'ampelopatia che si stava allora diffondendo in alcuni vigneti francesi, compresi nella zona del Bas Armagnac. La malattia si caratterizzava per la comparsa di particolari giallumi su varietà a uva bianca, oppure di anomalie arrossamenti sulle varietà a bacca nera. Le alterazioni presenti

sulle foglie erano considerate molto tipiche e spiccavano per la loro brillantezza, potendosi distinguere chiaramente da altre anomalie causate dalle avversità parassitarie conosciute in quel tempo.

Analogamente, la definizione di "*bois noir*" o legno nero (LN) si ricollegava alla formazione di imbrunimenti del legno, che comparivano durante l'inverno sui tralci delle viti precedentemente colpiti da deperimenti e da giallumi. Anche questo tipo di alterazione, dovuto alla mancata e irregolare lignificazione dei tralci era stato osservato per la prima volta a metà degli anni cinquanta in vigneti della Francia settentrionale (Bourgogne, Jura e Champagne) principalmente su viti della cultivar Chardonnay.

La distinzione tra FD e LN era stata quindi utilizzata per indicare le due malattie, che stavano colonizzando due diversi territori viticoli della Francia e che presentavano sintomi pressoché simili. Tale distinzione venne ripresa anche in Italia, nel tentativo di contraddistinguere le epidemie di giallume che, a partire dagli anni sessanta, si stavano diffondendo in diversi ambienti viticoli del Settentrione.

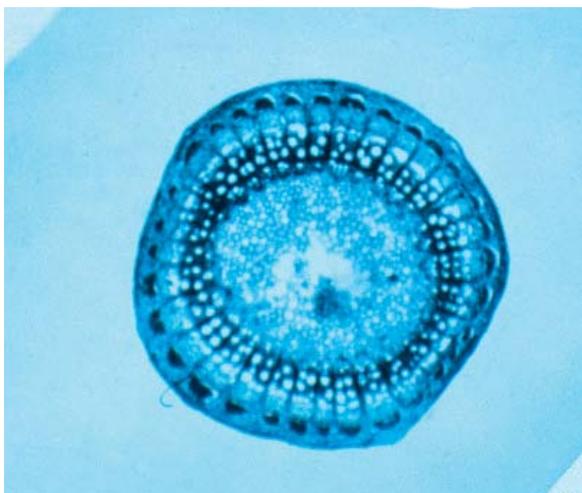
L'esame dei soli sintomi non è sufficiente a riconoscere le diverse fitoplasmosi, che nel corso degli anni sono state identificate e che progressivamente hanno colonizzato i vigneti di molti Paesi dell'Europa e di altri continenti. Una diagnosi sicura, che permetta di accertare l'esatta eziologia dei giallumi, oppure che porti a escludere la presenza di altre malattie causate da virus o di avversità biotiche o abiotiche, va eseguita mediante il ricorso ai saggi di laboratorio. Tuttavia alcune differenze sintomatologiche, se osservate con attenzione, possono consentire di diagnosticare, con buona affidabilità, la presenza di flavescenza dorata rispetto ad altre fitoplasmosi, in particolare legno nero.

Importanti differenze dei sintomi sono invece

legate alla componente genetica dei vitigni, in quanto si possono avere comportamenti molto differenti nell'ambito sia delle varietà da uva che dei portinnesti. Analogamente, le combinazioni di innesto, l'età delle piante, il periodo stagionale, le condizioni colturali, pedologiche e climatiche, lo stato vegetativo e gli stress fisiologici possono portare a diversificare la tipologia e l'intensità dei sintomi.



1. Giallume in ibridi Baco 22 A



3. Sezione di tralcio affetto da fitoplasmii: disagregazione vascolare del floema con inizio svuotamento del midollo

### 3.2 Sintomatologia

L'osservazione diretta dei sintomi, che compaiono sulle piante ammalate, rappresenta quindi uno strumento di diagnosi immediato e di facile applicazione, mentre l'identificazione degli agenti patogeni è demandata alle analisi di laboratorio. Bisogna anche considerare che, abbastanza frequentemente,



2. Forma grave di deperimento da GY in Chardonnay



4. Foglie di Chardonnay con aspetto "flavescente"

sulla stessa vite possono coesistere infezioni miste, per cui due o più fitoplasmi diversi possono essere identificati sullo stesso campione, quando viene sottoposto a saggio molecolare.

Le ispezioni di campo, necessarie per individuare le viti ammalate, devono essere fatte in momenti diversi del periodo vegetativo e vanno ripetute per più anni. Per prima cosa, è importante sapere che i sintomi delle fitoplasmosi vanno osservati controllando contemporaneamente le foglie, i tralci e, qualora presenti, i grappoli. In via prevalente essi si manifestano a partire dalla fase di allegagione, progressivamente aumentano con l'avanzare della stagione vegetativa e culminano verso la fase di maturazione dell'uva.

La sintomatologia può ulteriormente complicarsi in relazione al fatto che ogni pianta costituisce un individuo a sé stante. Ogni vite può presentare anomalie che assumono aspetti particolari per effetto della diretta conseguenza dell'interazione tra vari fattori: tipo di fitoplasmi, altre avversità dovute a fattori biotici e abiotici, reazione fisiologica delle piante colpita dai patogeni.

In alcuni casi i sintomi possono essere di debole intensità, rimanendo localizzati su alcune foglie e su qualche tralcio poco sviluppato, il quale rimane spesso coperto dal resto della vegetazione: tutto ciò rende quindi difficoltosa l'individuazione della pianta ammalata. All'opposto l'intensità dei sintomi può essere molto forte e può portare al completo deperimento della pianta, fino a provocarne la morte (*foto 2*).



**5. Arrossamenti diffusi in foglie di Sangiovese**  
Foto M. D'Arcangelo

### *Sintomi generici dei giallumi*

Le cause che portano alla comparsa dei giallumi sono da attribuire alle risposte fisiologiche, che vengono attivate sugli organi suscettibili, allorché la pianta viene attaccata dai fitoplasmi. I sintomi sono la conseguenza dei danni subiti dal floema e dal cambio dei tralci e del tronco; ciò dipende dal fatto che i fitoplasmi intervengono sull'equilibrio ormonale della pianta, privilegiando la fase vegetativa su quella riproduttiva.

L'agente patogeno invade i tessuti conduttori floematici (quali le nervature, i piccoli fogliari, i tralci), generando la disgregazione del sistema vascolare discendente e interrompendo la continuità dei tubi linfatici e dei tessuti midollari (*foto 3*). L'alterazione del floema provoca l'accumulo di amidi nelle foglie, blocca la migrazione delle sostanze elaborate e progressivamente impedisce il nutrimento dell'uva, dei tralci e del fusto.

### *Sintomi su foglie*

La presenza delle fitoplasmosi si rende evidente, osservando l'apparato fogliare: sulle viti ammalate i sintomi compaiono generalmente verso l'inizio dell'estate e tendono gradatamente ad accentuarsi con l'avanzare della stagione vegetativa, risultando inconfondibili in settembre e ottobre.

Le foglie presentano un'intensa e disforme colorazione della lamina, che diventa giallo-vivo per le varietà a uva bianca e rosso-intenso e vivace nelle varietà a bacca nera. In entrambi i casi si evidenzia una particolare lucentezza con riflessi metallici sulla pagina superiore, favorendo il tipico



**6. Alterazioni cromatiche settoriali in Tocai rosso**



7. Giallumi nervali da GY in foglie di Riesling italoico



8. Alterazioni maculari in foglie di Riesling italoico

aspetto “flavescente” (*foto 4*). Il viraggio del colore può interessare tutta la foglia, oppure può rimanere limitato ad alcune zone o a settori di varia estensione, che restano definiti dalle nervature primarie o secondarie, le quali si colorano intensamente e con varia tonalità in funzione del vitigno (*foto 5, 6, 7*). A volte il cromatismo della lamina fogliare rimane limitato ad aree o a macchie circoscritte, che si sviluppano prevalentemente in corrispondenza delle nervature; molto spesso si estende progressivamente all'intero organo e a tutte le foglie dello stesso tralcio (*foto 8*).

Limitatamente alle varietà più suscettibili, le alterazioni cromatiche investono l'intera pianta (*foto 9*). Con il passare del tempo, le foglie danneggiate subiscono un precoce invecchiamento, che ne favorisce la caduta anticipata. Infatti, in corrispondenza delle aree clorotiche o arrossate, come pure sulle nervature principali e marginalmente su quelle secondarie, si formano vistose necrosi e imbrunimenti nervali, che anticipano il processo di suberizzazione nel punto di inserzione della lamina fogliare con il picciolo (*foto 10*). In tali situazioni si verifica una precoce filloptosi su gran parte della vegetazione: la lamina si stacca dal picciolo, che rimane invece attaccato al tralcio.

Su molte varietà, tra cui Chardonnay, Pinot, Cabernet franc, Merlot etc., la malattia causa un accentuato arrotolamento del lembo fogliare, che piega vistosamente verso il basso, facendo assumere alla foglia una tipica forma geometrica triangolare o poligonale (*foto 11*); la lamina diventa bolla, spessa, coriacea, fragile e scricchiolante al tatto. In altri vitigni, quali Cabernet Sauvignon, Manzoni bianco (Incroccio Manzoni 6.0.13), Prosecco, Sauvignon b, Trebbiano toscano etc., le foglie mantengono forme abbastanza normali, pur presentandosi di maggiore consistenza rispetto alla norma (*foto 12*).

Nell'ambito della stessa varietà, come pure nello stesso vigneto, si possono però osservare comportamenti differenti tra le viti ammalate: gli arrotolamenti dei bordi fogliari e le alterazioni cromatiche della lamina diventano più intensi e marcati su piante già affette dalla virosi dell'accartocciamento fogliare, malattia che da sola causa accentuate alterazioni cromatiche e il ripiegamento dei bordi fogliari. Per evitare possibili confusioni tra le due malattie, fin d'ora si specifica che nel caso della virosi sono le foglie più vecchie quelle che presentano sintomi di rossori o di ingiallimenti, mentre le nervature rimangono sempre verdi (*foto 13, 14*).

*Sintomi su tralci*

I tralci ammalati assumono una colorazione verde sbiadito, tendente al grigio-verdastro. Nei casi gravi rimangono erbacei, di consistenza spugnosa e gommosa; presentano uno sviluppo ridotto accompagnato a volte da andamento a zig-zag. Per effetto della ridotta lignificazione diventano

molli e flessuosi con comportamento ricadente, seguito da un contorcimento dei meristalli basali. In tali situazioni si formano spaccature longitudinali con suberificazioni abbastanza estese lungo i meristalli (*foto 15, 16*).

In alcune varietà il parenchima corticale dei tralci colpiti risulta ricoperto da piccole e numero-



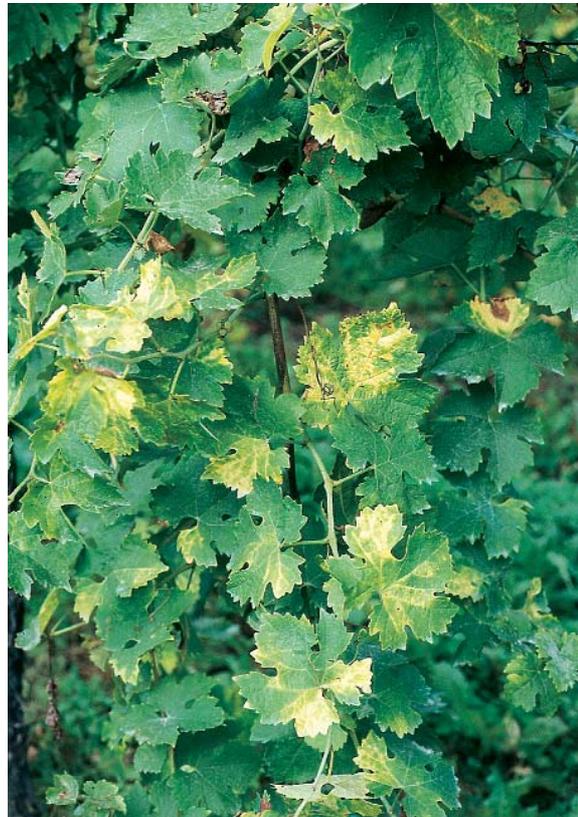
9. Alterazioni fogliari in Chardonnay



11. Pinot nero con fitoplasmosi



10. Necrosi nervali e arrotolamento dei bordi fogliari in Chardonnay



12. Trebbiano toscano affetto da giallumi



13. Fitoplasmosi e accartocciamento fogliare in Pinot grigio



14. Fitoplasmosi e accartocciamento fogliare in Cabernet franc



15. Spaccature longitudinali nei meritalli per ripiegamento di tralcio erbaceo



17. Pustole in tralcio erbaceo di Chardonnay



16. Tralci erbacei con sfogliature in Manzoni bianco (Incrocio Manzoni 6.0.13)



18. "Legno nero" in tralci di Chardonnay colpiti da giallumi

se pustole dall'aspetto oleoso, che emergono visivamente dall'epidermide. Inizialmente esse si presentano di colore verde intenso, mentre in seguito assumono una tonalità bruna e poi necrotizzano (foto 17). Talvolta anche la parte apicale dei germogli necrotizza e si atrofizza; durante l'estate si secca, arrestandone la crescita. In presenza di sintomi molto precoci e di forte intensità si ha il completo arresto dello sviluppo del germoglio.

I tralci colpiti, a seguito del mancato agostamento, maturano in modo irregolare, con parziale lignificazione dei meristalli e dei nodi. Quando sopraggiunge l'inverno, essi imbruniscono a causa del freddo, dando luogo al fenomeno conosciuto come "legno nero". La parte corticale si presenta secca, rivestita di piccole pustole biancastre (foto 18). Nei casi più gravi tutti i tralci manifestano alterazioni anomale e il portamento vegetativo della pianta appare fortemente compromesso. Durante la potatura invernale risulta difficile trovare tralci idonei alla costituzione di nuovi capi a frutto, in quanto il legno risulta morto (di colore nerastro), oppure si presenta completamente secco.

#### *Sintomi su grappoli*

I grappoli possono manifestare una variabilità di sintomi, che vanno dall'appassimento delle in-



19. Danni in grappoli e tralci di Prosecco

fiorescenze, all'aborto florale, al disseccamento dei raspi e all'avvizzimento dell'uva. L'intensità dei sintomi e la gravità del danno variano in relazione all'epoca di comparsa dei sintomi e alla fenologia della vite; essi sono inoltre collegati all'intensità delle anomalie presenti sulle foglie e sui tralci (foto 19).

In presenza di sintomi precoci, la malattia provoca un grave deperimento su tutta la vegetazione, danneggiando gravemente anche le infiorescenze. Queste si atrofizzano rapidamente, senza però manifestare la presenza di muffa grigia; poco dopo cadono unitamente alla parte terminale del germoglio.

Nel caso in cui la malattia manifesti i primi sintomi a partire dalla fioritura, si può avere l'aborto dei fiori: il raspo, denudato degli acini, si secca interamente e può rimanere attaccato al tralcio per un breve periodo, oppure si stacca quando non ci sono più acini allegati. Se invece la malattia comincia a manifestarsi dopo l'avvenuta allegazione, i grappoli colpiti rimangono attaccati al tralcio: il rachide appare disteso, in alcuni casi può apparire lievemente contorto e di colore violaceo e può presentare mutilazione di alcune sue parti. A volte i grappoli portano solo pochi acini sparsi sulle ali, mentre tutta la rimanente parte si presenta disseccata, conservando i residui florali e gli abbozzi di acini. Le bacche tendono in genere a raggrinzire



20. Grappoli danneggiati da fitoplasmosi in Chardonnay



21. Danni in grappolo in fase di maturazione



22. Sintomi di GY in Negro amaro



23. Intera vite affetta da giallumi

oppure, con il passare del tempo, seccano e cadono in maniera graduale e con intensità variabile, iniziando spesso dalle porzioni più distali del grappolo (foto 20, 21). L'uva, che si mantiene fino all'epoca di vendemmia, si presenta acerba e non è idonea alla vinificazione, giacché il succo è aspro e privo di zuccheri. In tal modo gran parte della produzione di uva viene compromessa.

#### *Deperimento generale della pianta*

Solitamente è sufficiente constatare la presenza dei sintomi sulle foglie, sui tralci e sui grappoli per diagnosticare se la vite ammalata è affetta da fitoplasmosi (foto 22). Esistono però casi molto gravi in cui la sintomatologia riguarda l'intera pianta, in considerazione del fatto che l'ampelopatia, presente già da alcuni anni, sta generando un progressivo deperimento del fusto, compromettendo la possibilità di guarigione (foto 23, 24, 25). Questo com-



24. Giallumi in Molinara

portamento, che in genere si verifica su varietà di vite molto sensibili, quali per esempio Chardonnay, Riesling italico, Manzoni bianco, Tocai rosso, può provocare la morte anticipata della pianta. La moria si può verificare anche su vitigni meno suscettibili, qualora concorrano altri deperimenti dovuti a stress biotici e abiotici. Infatti, il perdurare dei sintomi delle fitoplasmosi per più anni consecutivi provoca un progressivo indebolimento della pianta a causa del mancato accumulo delle sostanze di riserva nei tralci, nel fusto e nelle radici. In condizioni colturali più favorevoli e in vitigni considerati tolleranti ai giallumi, si può avere la remissione dei sintomi: le viti dotate di buona vigoria e che presentano sintomi localizzati solo su alcuni tralci, possono manifestare la “guarigione”, che può essere definitiva o solo temporanea.

Il declino generale delle viti ammalate risulta tanto più rapido quanto più intensi sono i sintomi che colpiscono le foglie e i tralci. Nelle forme di allevamento espanse, che portano branche permanenti alquanto lunghe (potature a Sylvoz, a Casarsa, cortine speronate etc.), il danno risulta evidente in quanto mancano capi a frutto di rinnovo, i quali vengono soppressi con le potature invernali, poiché si presentano secchi e bruni. Il degrado della pianta diviene progressivo; il recupero del ceppo richiede particolari interventi di dendrochirurgia, che comportano l'asportazione delle parti secche o la capitozzatura del tronco al di sopra di eventuali ricacci basali, apparentemente sani (foto 26).

Il problema assume dimensioni gravi nei casi in cui la malattia colpisca viti ancora giovani, di uno o più anni (foto 27). In queste situazioni il deperimento della pianta appare molto accentuato in quanto si ha un danno irreversibile sul legno, indipendentemente dalla varietà. Anche su vitigni co-



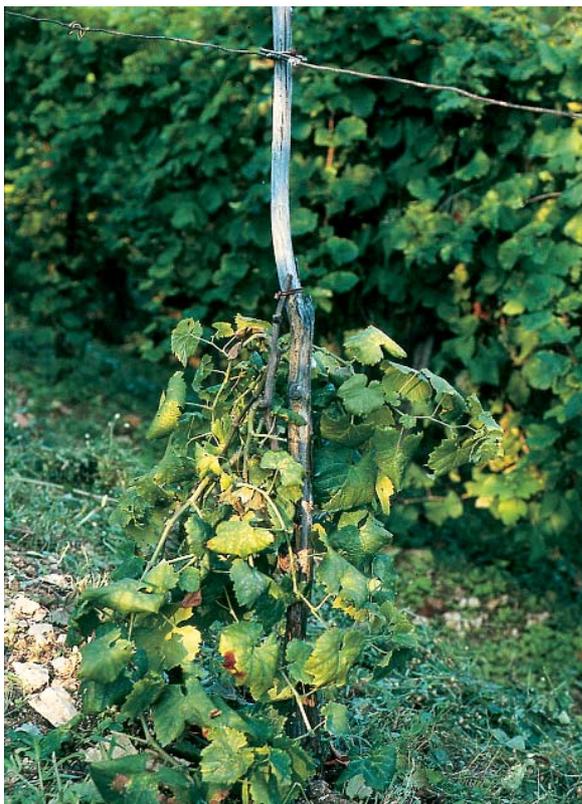
25. Cabernet Sauvignon affetto da giallumi

munemente ritenuti tolleranti ai giallumi, le giovani piante colpite presentano gravi e irreparabili alterazioni istologiche del legno quando la malattia colpisce anche l'astone principale, che era destinato a costituire il tronco permanente.

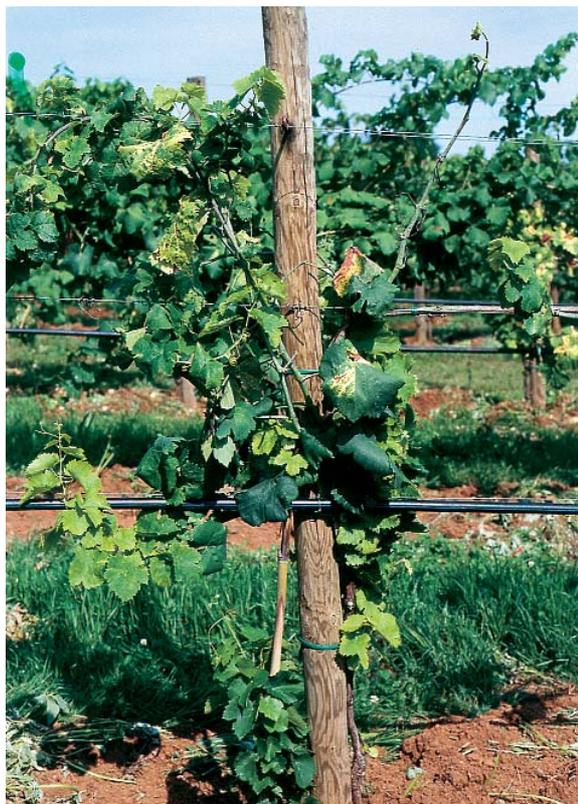
La parte danneggiata, che si trova ancora allo stadio di tralcio, subisce la disgregazione del sistema vascolare ancora in fase di differenziazione. L'accrescimento del giovane fusto, quando porta tralci anticipati con foglie sintomatiche, viene impedito e si arresta nel corso dell'estate, per cui gli organi di riserva risultano privi delle sostanze che le foglie avrebbero dovuto elaborare e cedere. Il legno pertanto non matura in maniera adeguata e uniforme; presenta sintomi abbastanza evidenti sulla parte corticale, rappresentati da alterazioni cromatiche più brune con tacche coriacee ed estese necrosi corticali (foto 28, 29). In tali situazioni il legno del tronco delle viti, ancora in età giovanile, invecchia precocemente e arresta la propria crescita; il ritidoma non si rinnova e tende a rimanere coriaceo e bruno.

Gli effetti della malattia si rendono evidenti alla successiva ripresa vegetativa a causa del mancato germogliamento delle gemme sia sui capi a frutto, sia lungo l'astone o il giovane fusto. Il fenomeno compare nonostante i tubi risultino irrorati di linfa e le gemme sembrano apparentemente ancora vive; queste comunque potrebbero schiudere, ma con ritardo e dando origine a esili e fragili germogli.

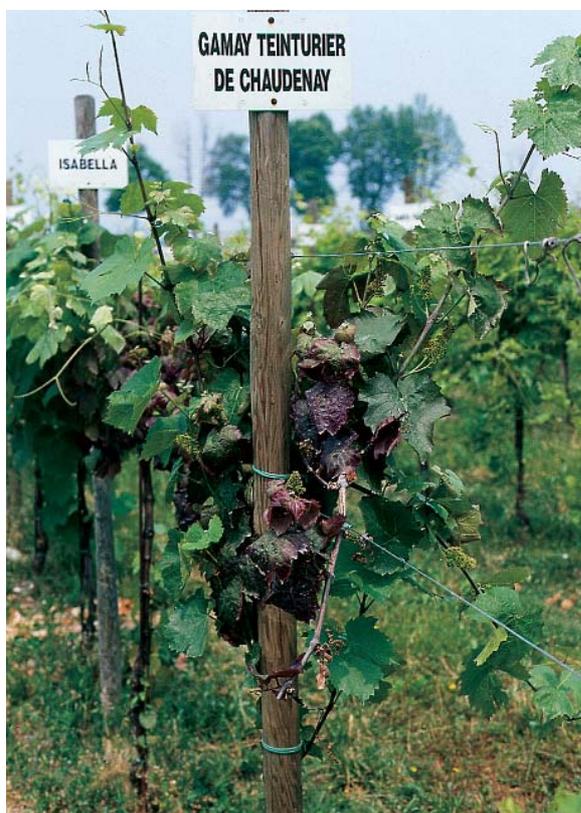
In presenza di simili deperimenti, che provocano irreparabili danni sugli organi strutturali della vite, l'unico rimedio è l'eliminazione delle parti colpite. Qualora però sia colpita una pianta di pochi anni la soluzione migliore e più immediata è l'estirpo del ceppo malato. Questa operazione va eseguita fin dalla prima manifestazione dei sintomi, in quanto ogni tentativo di recupero e di ricostruzio-



26. Viti capitozzate per interventi di risanamento



27. Vite di un anno affetta da giallumi



28. Giovane astone di vite affetta da giallumi

ne del ceppo sarebbe inutile, dato che il floema del tronco risulta danneggiato in maniera irreversibile, anche in considerazione che la pianta non riesce ad accumulare sufficienti sostanze di riserva.

#### *Sintomi particolari*

Vengono di seguito descritti alcuni aspetti meritevoli di una trattazione specifica, utile a meglio illustrare la comparsa di sintomi precoci sulle viti ammalate, come pure a valutare il diverso comportamento epidemico relativo ad alcuni vitigni e che la letteratura ha preso come guida per descrivere le sintomatologie dei giallumi.

#### *Sintomi precoci*

Le alterazioni cromatiche e morfologiche che compaiono sulle piante colpite da giallumi risultano in genere più o meno simili. Dopo anni di valutazioni e controlli di campo, è stato possibile evidenziare alcuni aspetti particolari, cioè che le piante ammalate potevano presentare differenti tipologie di sintomi come pure assumere differenti comportamenti.

Le classiche descrizioni dei sintomi e gli schemi finora illustrati (Egger e Borgo, 1983; Borgo 2002) indicano che la malattia comincia a manifestarsi a partire dalla fase post-florale, epoca in cui le pian-

te colpite mostrano, di norma, le prime alterazioni cromatiche sulle foglie, spesso accompagnate da accartocciamento dei bordi, la formazione di pustole oleose sui tralci e qualche primo sintomo sui grappolini appena allegati.

Dopo l'arrivo della flavescenza dorata nei vigneti del Settentrione, è stato invece possibile riscontrare che i primi sintomi della malattia potevano manifestarsi alla ripresa vegetativa.

Le piante colpite presentano un germogliamento irregolare, caratterizzato dalla presenza di molte gemme cieche sui capi a frutto lasciati dopo la potatura (*foto 30*); ciò si rende evidente anche se i tralci sono ben formati, di diametro consistente e di colore normale (*foto 31*). I germogli, originati da qualche gemma schiusa, arrestano quasi improvvisamente la loro crescita e rimangono di dimensioni più ridotte rispetto alla norma (*foto 32*), presentano pochi internodi, a volte disposti a zig-zag. Inoltre mostrano un aspetto vitrescente con striature imbrunite, sono di consistenza fragile e si rompono facilmente quando vengono sottoposti a lieve piegatura con le dita. La parte apicale si atrofizza e dissecca dopo poco tempo.

Le foglie sono di dimensioni più ridotte rispetto alla norma e si sviluppano irregolarmente con scarsa distensione delle nervature e con formazione di pieghe sulla lamina. Presentano punti di rottura, arrotolamento dei bordi, disseccamenti localizzati, aspetto luccicante (*foto 33*); al tatto risultano turgide, scricchiolanti e molto fragili. Le prime foglioline del cercine seccano e cadono con anticipo.

Le infiorescenze rimangono allo stadio di abbozzi e non si distendono; presentano imbrunimenti con necrosi e seccumi a iniziare dalle parti distali, per proseguire sull'intero organo, che poi si stacca dal germoglio.

La particolarità di questa tipologia di sintomi è la loro tempestiva manifestazione, che risulta palese a distanza di soli 20-30 giorni dall'inizio del germogliamento della vite.

I saggi molecolari per la ricerca degli agenti patogeni, eseguiti su campioni di foglie raccolte da piante che mostravano sintomi precoci, hanno dato risposte positive per il fitoplasma della flavescenza dorata.

Sulla base dei sintomi e dei risultati dei test di laboratorio si può quindi affermare che FD è in grado di rendersi manifesta subito dopo il germogliamento, cioè con molto anticipo rispetto a quanto si verifica invece nel caso in cui le piante risultino affette da legno nero, i cui sintomi compaiono generalmente a partire dalla fine fioritura o in post allegazione dell'uva.

Il fatto di porre adeguata attenzione all'epoca



29. Viti giovani affette da giallumi



30. Irregolare germogliamento in vite di Chardonnay affetta da flavescenza dorata



31. Sintomi precoci in Cabernet Sauvignon



32. Germogli atrofizzati da attacco precoce di flavescenza dorata



33. Infiorescenze necrotizzate per attacco precoce di flavescenza dorata in Cabernet Sauvignon



34. Vite di Sangiovese affetta da GY

di comparsa dei primi sintomi può tornare utile per formulare una prima e sommaria diagnosi sul tipo di malattia presente, anche se il preciso responso dovrà sempre essere confermato dai risultati dei saggi di laboratorio. I controlli di campo, se eseguiti precocemente, permettono solo di individuare le piante affette da giallumi e di favorire l'identificazione di nuovi focolai di flavescenza dorata.

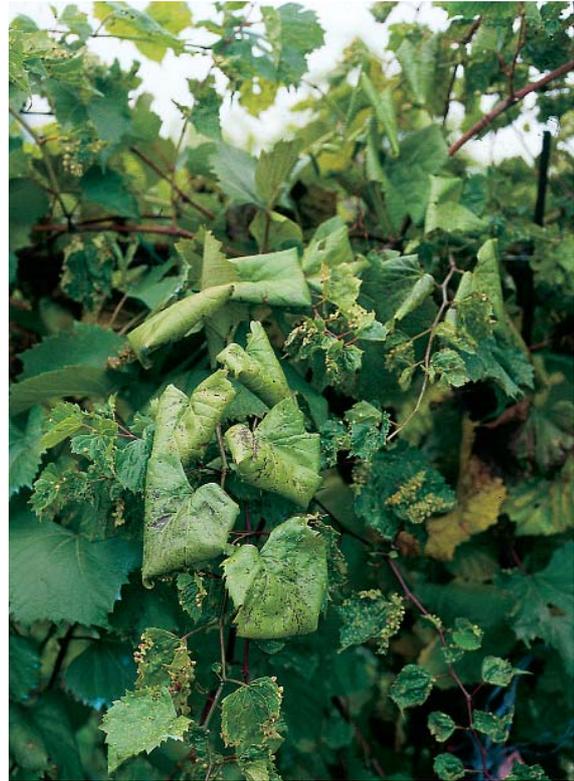
#### *Evoluzione della malattia in vitigni diversi*

Fin dai primi anni in cui le fitoplasmosi avevano cominciato a diffondersi in Francia, erano stati osservati comportamenti differenti, variabili in funzione dei vitigni ammalati (Caudwell, 1981). Sono quindi state descritte alcune tipologie di sintomi, che non tengono però conto dell'esatta eziologia della malattia:

- *Evoluzione tipo Baco 22 A e Trebbiano toscano*  
In queste varietà e in gran parte dei vitigni coltivati, la malattia si manifesta inizialmente in forma grave. Dopo il primo anno di crisi, la pianta colpita si ristabilisce nel corso di una o due annate. La guarigione risulta definitiva se non si verificano successive reinoculazioni da parte dei vettori di fitoplasmi; qualora ciò si



35. Sintomi di fitoplasmosi nel portinnesto 140 Ru



36. Vite di portinnesto 101.14 affetta da GY

avveri, i sintomi restano limitati a qualche tralco vicino al punto di inoculazione.

- *Evoluzione tipo Nielluccio o Sangiovese*  
Le piante infette si ammalano improvvisamente e presentano sintomi evidenti su tutto il ceppo. La malattia permane per più anni fino a provocare la morte delle viti, che soccombono senza andare incontro a fenomeni di guarigione. Questo tipo di evoluzione interessa i vitigni che normalmente sono classificati molto sensibili, tra cui Chardonnay, Riesling italico, Sangiovese (foto 34).

Altri vitigni invece possono assumere un comportamento intermedio, tipo quello descritto per Alicante Bouschet. I sintomi della malattia possono manifestarsi per 2-3 anni consecutivi; in seguito la pianta colpita può morire oppure può ristabilirsi a seguito di interventi di potatura volti a eliminare le parti di legno più deperite o di capitozzatura per la ricostruzione del tronco. Evoluzioni di questo tipo sono frequenti in molti vitigni, tra cui si possono citare Prosecco, Cabernet Sauvignon, Barbera.

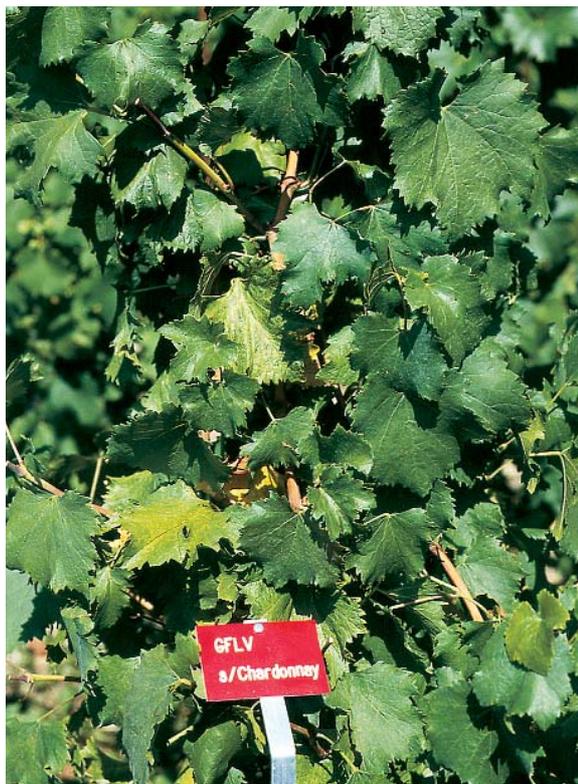
È stato comunque notato che i suddetti compor-

tamenti si possono manifestare sulle viti ammalate indipendentemente dal fatto che i giallumi siano causati da flavescenza dorata piuttosto che da legno nero e/o altri fitoplasmi. Eventuali differenze tra le malattie potrebbero essere di tipo epidemiologico, in considerazione che FD si caratterizza per uno sviluppo delle epidemie molto più rapido e per la sua virulenza su un numero superiore di piante rispetto a LN.

L'esame dei sintomi di GY sulle viti americane può risultare più difficile rispetto alle varietà da uva. Le forme di allevamento adottate negli impianti di piante-madri portinnesto (tipo strisciante, a tendone, a spalliera, a pergoleta), come pure il forte sviluppo vegetativo e l'intricata disposizione dei lunghi tralci, rendono difficoltose le operazioni di rilievo e di controllo. Tuttavia, osservando attentamente la base dei nuovi tralci, è possibile individuare la presenza della malattia. I sintomi possono comparire solo su alcuni tralci, che risultano poco lignificati, ricoperti da necrosi longitudinali, sottili ed elastici. Le foglie colpite mostrano evidenti sintomi di accartocciamento, colorazioni "flavescenti" con necrosi nervali; sono di consistenza coriacea e risultano ben evidenti rispetto al restante apparato fogliare, che ha un portamento del tutto normale (foto 35, 36).



37. Giallumi infettivi dovuti a virosi



38. Giallume e malformazione infettivi



39. Malformazioni infettive nel tralcio

### 3.3 Alterazioni imputabili ad altre cause

In questo capitolo vengono illustrate altre avversità della vite che possono manifestare sintomi, i quali, a un sommario esame, potrebbero essere confusi con quelli imputabili alle fitoplasmosi. Spesso, vedendo per la prima volta piante affette da giallumi o da rossori molto vistosi, capita che si sia indotti a fare diagnosi non esatte, in quanto non si conoscono perfettamente i sintomi causati da altre malattie della vite.

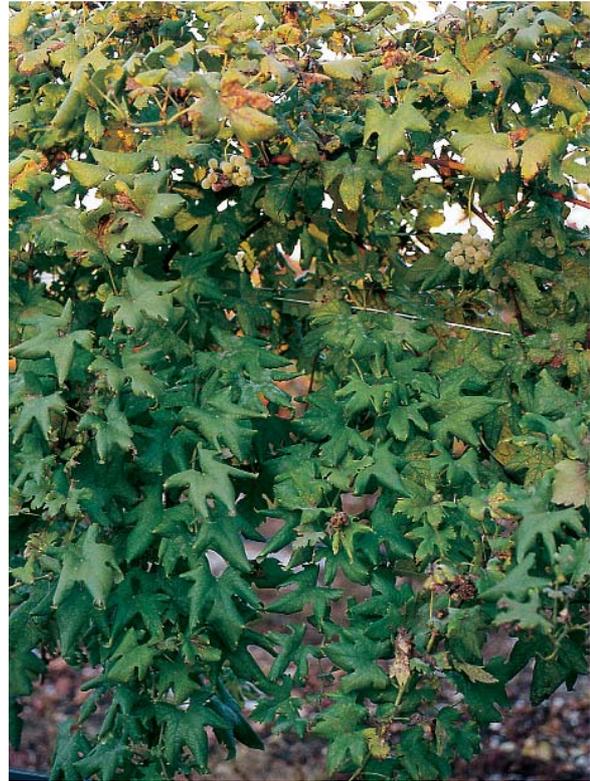
#### *Alterazioni per presenza di malattie virali*

Alcune ampelopatie virali possono presentare sintomi che in parte assomigliano a quelli causati dai fitoplasmi. Vengono di seguito sintetizzate le sintomatologie di alcune virosi della vite e che in parte possono essere confusi con quelli dei GY: accartocciamento fogliare, degenerazione infettiva, suberosi corticale.

- La virosi della *degenerazione infettiva*, nota anche con i nomi di *giallume infettivo* o *arricciamiento della vite*, è data da un complesso virale assai diffuso in tutto il mondo. Essa si caratterizza per la



40. Sintomi di accartocciamento fogliare in Pinot nero



41. Accartocciamento fogliare in Malvasia gialla

comparsa di sintomi di tipo cromogeneo e deformanti, in quanto a livello di foglie, grappoli e tralci si possono avere alterazioni chiaramente differenti da quelle provocate dai fitoplasmi.

Le foglie delle piante ammalate presentano giallumi nervali e/o perinervali sia su varietà a uva bianca, sia su quelle a bacca nera (foto 37). Le foglie mostrano vistose deformazioni con seni peziolari aperti, nervature primarie ravvicinate (prezzemolatura), bordi arricciati con denti molto pronunciati (foto 38). Il danno sui grappoli si manifesta con acinellatura a volte molto forte e con irregolare crescita delle bacche (*millerandage*). I tralci possono presentare fasciazioni, biforcazioni, nodi doppi, internodi irregolari, appiattimento dei meristalli, andamento a zig-zag, spostamento dei viticci etc. (foto 39). Questo complesso virale, trasmissibile mediante propagazione di materiale viticolo infetto o mediante nematodi vettori di virus presenti nel terreno, risulta assai diffuso nei vecchi vigneti delle zone di collina; dovrebbe invece essere assente sui nuovi impianti costituiti con materiale di categoria “certificato”. Le piante ammalate non hanno alcuna possibilità di guarigione; da un anno all’altro può variare l’intensità dei sintomi e dei danni.

- La virosi dell’*accartocciamento fogliare*, considerata una delle più importanti malattie da virus della vite e ampiamente diffusa in tutti gli ambienti viticoli del mondo, si caratterizza per la presenza di sintomi che manifestano arrossamenti o giallumi della lamina fogliare (foto 40, 41). La malattia, causata da un complesso virale comprendente vari closterovirus associati alla vite (*Grapevine Leafroll associated Virus: GLRaV*), è di tipo permanente ed è trasmissibile mediante l’uso di materiali di moltiplicazione viticola infetti o tramite attacchi di insetti vettori, prevalentemente le cocciniglie.

Sulle piante ammalate i sintomi dell’*accartocciamento* si presentano ogni anno e possono essere osservati fin dal primo anno di impianto, come pure in vivaio. L’intensità dei sintomi e l’epoca di comparsa variano in funzione dei vitigni e degli ambienti di coltivazione della vite. Le differenze sintomatologiche tra fitoplasmosi e *accartocciamento fogliare* vengono sintetizzate nel *Prospetto 1*. Nel caso della virosi dell’*accartocciamento*, limitatamente agli ambienti e alle annate fresche, i sintomi sulle foglie si rendono evidenti in prossimità della fase di invaiatura dell’uva e si accentuano progressivamente con l’avanzare della stagione vegetativa. Le piante virosate si identificano chiaramente

**Prospetto 1 - Principali caratteristiche distintive tra fitoplasmosi e accartocciamento fogliare della vite**

<i>Parametri di valutazione</i>	<i>Fitoplasmosi</i>	<i>Accartocciamento</i>
SINTOMI SU FOGLIA		
Riflessi metallici	presenti	assenti
Tacche cromatiche circoscritte	presenti	assenti
Cromatismo della lamina	presente	presente
Colorazione settoriale	presente	assente
Alterazione cromatica delle nervature	presente	assente
Ripiegamento dei bordi fogliari	varia intensità	accentuato
Consistenza papiracea	presente	assente
Fragilità	presente	assente
Caduta	anticipata	posticipata
Diffusione	da parziale a totale comprese le foglie giovani	su tutte le foglie adulte
SINTOMI SU TRALCIO		
Palesi	sì	no
Internodi	a zig-zag	regolari
Consistenza	erbacea, semilegnosa	legnosa
Fragilità	accentuata	assente
Fenditure longitudinali	presenti	assenti
Colorazione del tralcio maturo	bruna	normale
Germogliamento delle gemme	posticipato*, assente	normale
Portamento	piangente	normale
SINTOMI SU GRAPPOLI		
Infiorescenze	possibili danni	normali
Disseccamento	presente	assente

\* Casi rari, irregolare sul cordone o tralcio, dipende dalle cultivar.

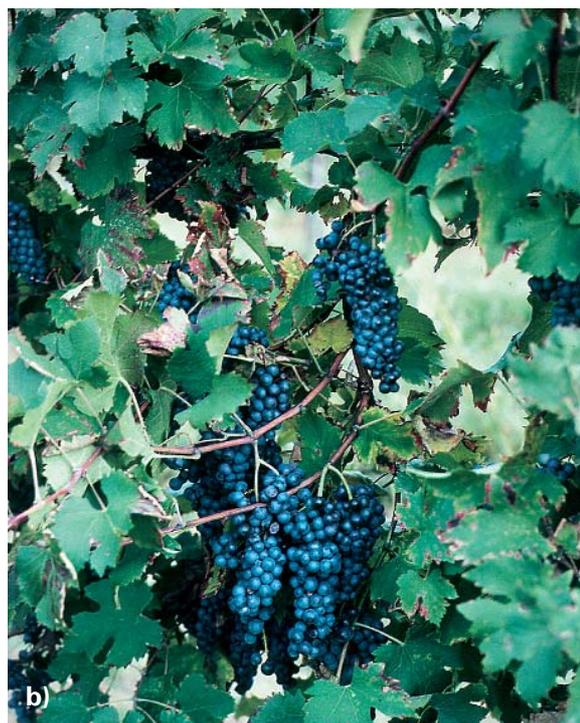


**42. Tipici sintomi di accartocciamento fogliare in Cabernet franc**

in tarda estate e in fase di pre-caduta delle foglie, in quanto queste assumono colorazioni intense, accartocciano e cadono con ritardo rispetto a quelle delle viti esenti dalla virosi.

A differenza di quanto si verifica in piante affette da GY, le foglie sintomatiche presentano le nervature e gli spazi perinervali sempre verdi (*foto 42*), i tralci raggiungono una maturazione normale, i grappoli non risultano danneggiati, mentre l'uva tarda a maturare con gran parte degli acini che rimangono ancora verdi (*foto 43a-b*).

- La *disaffinità d'innesto* è un'altra malattia da virus, scoperta recentemente, in grado di provocare sintomi assimilabili a quelli delle fitoplasmosi. È causata dalla presenza di un closterovirus (GLRaV2), entità patogena che, oltre a provocare sintomi di accartocciamento fogliare, risulta coinvolta anche nella complessa sindrome del legno riccio della vite. Il danno può diventare molto grave, in quanto innestando marze di piante virosate su portinnesti sensibili, quali per esempio Kober 5BB, 5C, 3309C, si



43. Danni causati da accartocciamento fogliare in uva in fase di maturazione: confronto tra vite infetta (a) e vite sana (b)



44. Deperimenti e arrossamenti fogliari in barbatelle affette da disaffinità di innesto



45. Sintomi di suberosi corticale in indicatore LN 33

può assistere alla improvvisa comparsa di alterazioni cromatiche su tutto il fogliame, a cui si accompagna un progressivo deperimento dell'intera pianta fino a provocarne la morte nei casi fitopatologici più gravi. Il fenomeno si rende evidente sia in vivaio (foto 44) che in vigneto. Il deperimento è causato da una irregolare unione e saldatura dei due bionti: al punto di innesto si ha la formazione di un diaframma tra i tessuti di cicatrizzazione, tale da impedire la perfetta unione tra portinnesto e marza, provocando l'interruzione dei tessuti vascolari, accompagnata da una

ridotta tenuta del punto d'innesto. L'osservazione dei tessuti interni mostra la netta separazione tra callo della marza e del portinnesto.

- La *suberosi corticale* o "corky bark" è un'altra malattia virale che, qualora sia presente su varietà sensibili (ad esempio, la varietà indicatrice ibrido LN 33), può causare sintomi in parte simili a quelli descritti per le fitoplasmosi. Le piante ammalate mostrano una ridotta ripresa vegetativa, accompagnata da forte ritardo di germogliamento; le foglie



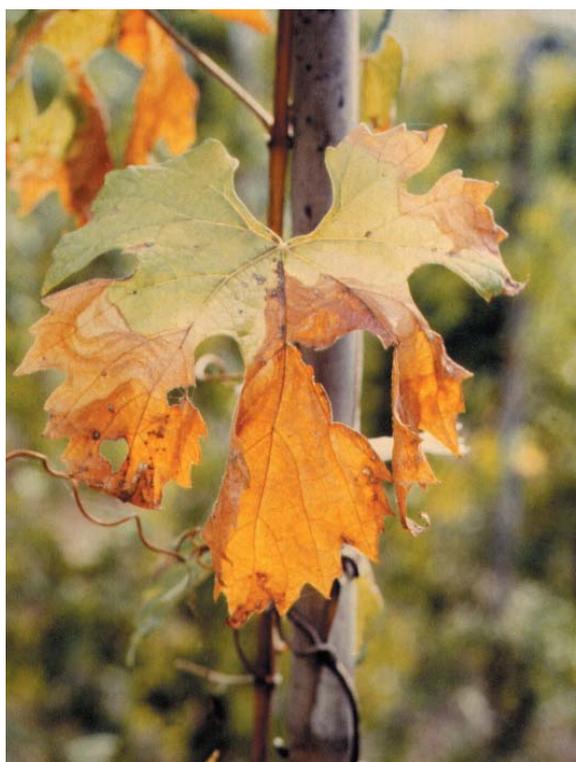
46. Tralci affetti da "mal nero" causato da *Xylophilus ampelinus*

dei tralci colpiti manifestano colorazioni anomale, caratterizzate da ingiallimenti su varietà a uva bianca e da arrossamenti su quelle a uva nera e da un inizio di arrotolamento del lembo verso le pagine inferiori (foto 45).

I sintomi si possono estendere a tutta la foglia, comprese le nervature, oppure si possono limitare a qualche settore. Nei casi più gravi le foglie danneggiate tendono a staccarsi con anticipo rispetto a quelle sane. La malattia colpisce anche i tralci, che rimangono erbacei o poco lignificati, elastici e con portamento cadente. I meristemi basali mostrano caratteristici rigonfiamenti con fenditure longitudinali, spaccature e piccole neoplasie corticali. La vigoria vegetativa risulta ridotta, comportando una scarsa produzione di uva, che matura irregolarmente. Si precisa comunque che la suberosi corticale è una virosi poco diffusa e difficilmente si possono verificare comportamenti epidemici gravi nei vigneti italiani.

#### *Alterazioni per malattie da batteri*

In viticoltura esistono due malattie batteriche che possono indurre sintomi assimilabili a quelli dei GY: mal nero e malattia di Pierce, entrambi



47. Foglia affetta dalla malattia di Pierce

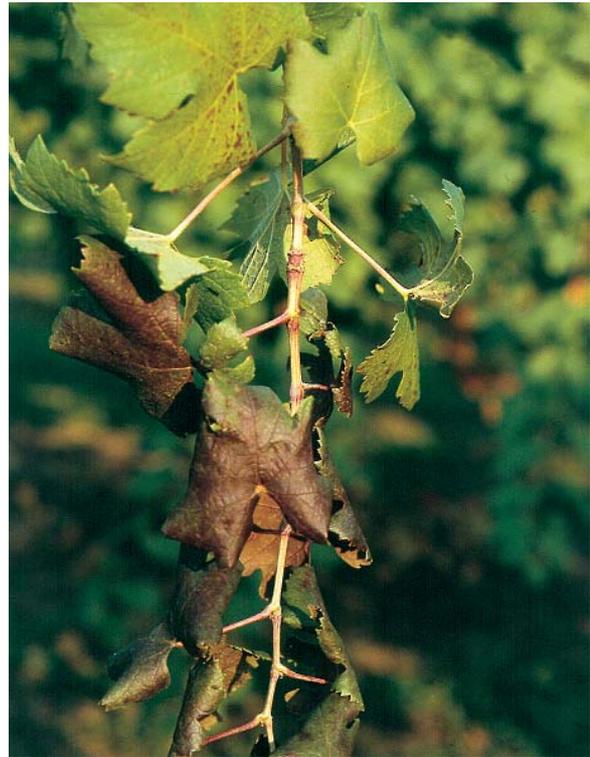
considerate pericolose in quanto provocate da organismi sottoposti a regimi di "quarantena".

- Il *mal nero*, causato da *Xylophilus ampelinus*, è stato individuato per la prima volta in Italia nel 1879. La malattia è di tipo endemico e, occasionalmente, può comparire in qualche vigneto. I sintomi possono manifestarsi a carico di gemme, di germogli, di foglie e di grappoli; compaiono a partire dalla ripresa vegetativa e progrediscono fino a metà estate. I germogli colpiti sono deboli e seccano nel giro di poche settimane; quelli più sviluppati presentano aree necrotiche scure, longitudinali e spaccature in corrispondenza dei meristemi basali (foto 46). Le necrosi si possono estendere anche alle foglie, che colorano più intensamente e seccano improvvisamente. Le branche delle viti ammalate, con il passare del tempo, deperiscono progressivamente fino a causare anche la morte della pianta.

- La *malattia di Pierce* (*Pierce's disease*), provocata da infezioni causate dal batterio *Xylella fastidiosa*, si manifesta con alterazioni fogliari di tipo progressivo e con presenza di vistose macchie clorotiche o rossastre di colore verde chiaro, che si espandono a partire dai bordi (foto 47). Le foglie si



48. Arrossamento fogliare da attacchi di cicalina verde



49. Arrossamenti fogliari indotti per incisione anulare del tralcio provocati da *Stictocephala bisonia*

colorano a seconda del vitigno, seccano e poi si staccano dal picciolo, che rimane attaccato al tralcio. I grappoli vanno soggetti a colature fiorali, a irregolare maturazione dell'uva, seguita da avvizzimento e da disseccamento degli acini. I tralci maturano con irregolarità, rimanendo ancora verdi in prossimità dei nodi. Le viti colpite in maniera molto forte deperiscono gradatamente fino a morire, a seguito del mancato accumulo delle sostanze di riserva per la scarsa funzionalità del sistema vascolare dei tralci. La malattia è presente prevalentemente nell'America del Nord e in quella Centrale; recentemente è stata segnalata in Kosovo, facendo quindi aumentare il rischio che possa arrivare anche in Italia mediante la commercializzazione di materiale di moltiplicazione viticolo infetto.

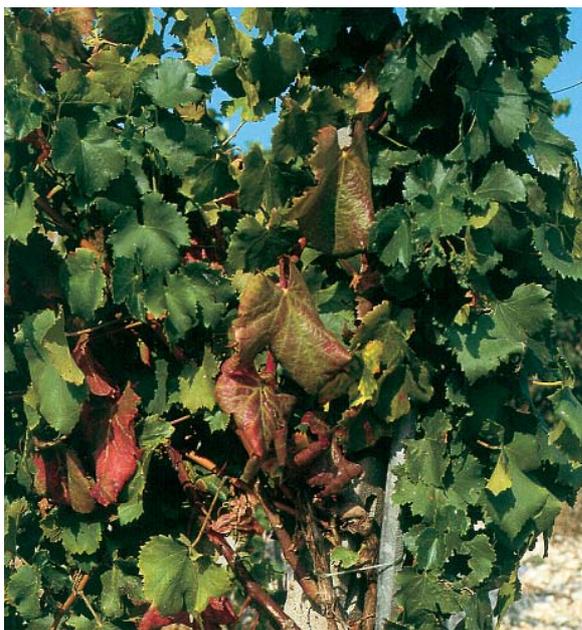
#### *Danni da Rincoti*

Per gli addetti ai lavori può sembrare pleonastico proporre confronti tra sintomi causati da fitoplasmi e alcuni danni provocati dagli attacchi di cicaline. In alcuni casi però si è avuto modo di constatare che, nelle zone di primo insediamento delle fitoplasmi della vite, veniva a volte enfatizzata ogni alterazione cromatica delle foglie, senza porre adeguata attenzione alle caratteristiche generali dei

sintomi presenti sulla pianta in osservazione.

Alcune varietà di vite, considerate molto sensibili per la peculiarità di possedere tessuti fogliari sottili, manifestano vistose alterazioni cromatiche a seguito di massicci attacchi della cicalina verde (*Empoasca vitis*), la quale punge le nervature delle foglie provocando un lieve accartocciamento e una colorazione della lamina più o meno intensa in funzione della varietà (foto 48). Le parti con ingiallimenti o con arrossamenti sono sempre delimitate dalle nervature di ordine superiore, al punto di assumere una forma a mosaico. I danni si rendono più evidenti a fine stagione vegetativa con effetti più marcati lungo i bordi delle foglie più giovani.

A fine estate risultano bene evidenti anche i danni causati dalla presenza nei vigneti della cicalina bufalo americana (*Stictocephala bisonia*), resi maggiormente evidenti nelle varietà a bacca nera, anche se non sfuggono neppure quelle a uva bianca. L'insetto provoca incisioni anulari sulla parte terminale dei tralci ancora allo stato erbaceo; le strozzature ostacolano la circolazione della linfa elaborata per l'interruzione dei tubi floematici. Le foglie poste verso le punte si colorano di giallo o di rosso, mentre la restante porzione del tralcio rimane regolare, foglie e uva comprese (foto 49).



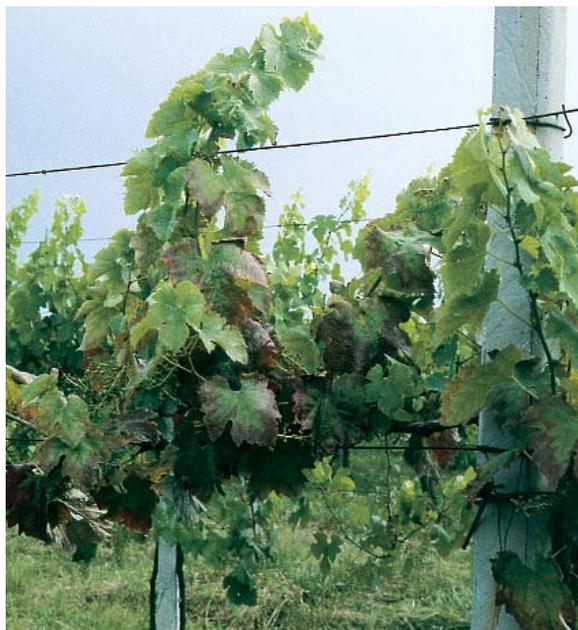
50. Alterazioni fogliari in tralcio con lesione basale

#### *Alterazioni abiotiche*

Nei sistemi colturali della vite si possono a volte verificare danni sulle viti dovuti a interventi meccanici o a squilibri fisiologici, che possono dare origine a sintomi in parte simili a quelli provocati dalle fitoplasmosi.

Non sono rari i casi in cui le viti portano strozzature o lesioni corticali a livello dei tralci e del fusto per traumi meccanici. Il fenomeno è più frequente su viti ancora in giovane età, nelle quali è più ricorrente la formazione di incisioni anulari lungo il tronco, sulle branche e sui capi a frutto più vigorosi per effetto di legature troppo strette o per attorcigliamento di viticci. Altri danni possono essere provocati da forti colpi di vento e sono più ricorrenti alla base dei tralci e in prossimità di biforcazioni e dei nodi.

In corrispondenza degli organi lesionati si generano modificazioni morfologiche nel sistema vascolare, con conseguente alterazione del soprastante apparato vegetativo, il quale può portare foglie con arrossamenti o ingiallimenti, arrotolamento del lembo, scarsa e irregolare lignificazione dei tralci, anomalie della maturazione dell'uva (foto 50). Trattandosi in genere di singole viti, poste in prevalenza sulle testate dei filari, si rende opportuna un'attenta ispezione dell'intera pianta per individuare l'eventuale presenza di ferite. Tali controlli servono per escludere cause di tipo patologico, la cui diagnosi va comunque accertata mediante il ricorso a saggi di laboratorio.



51. Sintomi fogliari da carenza di potassio

Altre manifestazioni di tipo anomalo possono insorgere a seguito di carenze nutrizionali, indotte per effetto di assenza o di scarsa disponibilità degli elementi nutritivi necessari per la vite. È noto come la componente eco-pedologica risulti di estrema importanza per assicurare il mantenimento degli equilibri nutrizionali delle piante; tuttavia si possono verificare alcune condizioni estreme, in cui nel vigneto sono presenti zone con scarsa e ridotta disponibilità di elementi nutritivi, quali acqua e sostanze minerali.

Tra i fenomeni di carenza, in grado di indurre sintomi assimilabili a quelli dei giallumi, si cita la carenza di potassio. Questa fisiopatia provoca un rallentato sviluppo della vite e una scarsa lignificazione dei tralci; nei casi più gravi causa alterazioni cromatiche sulle foglie, che corrispondono a ingiallimenti o arrossamenti più accentuati lungo i bordi, che poi finiscono per necrotizzare e seccare (foto 51). Il danno, di tipo reversibile, risulta ben evidente in quanto appare generalizzata su aree del vigneto ben definite e presenta maggiore intensità in corrispondenza di terreno più costipato e con eccesso di umidità.

Ben più grave è la situazione che si presenta in vigneti ancora giovani, piantati su terreni di collina, sottoposti a drastici interventi di sistemazione e di livellamento del suolo. I danni risultano accentuati e irreparabili nei casi in cui le asportazioni della parte superficiale del terreno abbiano provocato un accentuato impoverimento dello strato

attivo, su cui affondano le radici della vite. In tali situazioni il danno si manifesta fin dall'inizio e si accentua nel corso dei primi anni di coltivazione della vite, che va incontro a un progressivo deperimento dell'intera vegetazione, che presenta scarsa vigoria, irregolare lignificazione dei tralci, perdita di produzione, manifestazione di anomali sintomi fogliari. La diagnosi risulta facile in considerazione del fatto che la fisiopatia si distribuisce a macchie e presenta contorni che sfumano gradatamente dalla zona centrale più danneggiata. In ambienti già colpiti da fitoplasmosi, è più ricorrente trovare piante con sintomi di GY; un saggio di laboratorio si rende comunque opportuno per accertare l'eventuale presenza di fitoplasmi.

### 3.4 Conclusioni

La corretta diagnosi viva dei sintomi delle malattie causate da fitoplasmi richiede sempre una adeguata preparazione tecnica del personale, al fine di evitare possibili confusioni con altre malattie e fisiopatie della vite. In primo luogo essa comporta la necessità di ispezionare con attenzione tutta la pianta ammalata e di mettere a confronto i sintomi osservati sulle piante colpite da ampelopatie con il comportamento vegetativo di quelle sane della stessa varietà e nello stesso vigneto, al fine di escludere fenomeni generici e che non hanno alcuna attinenza con le fitoplasmosi.

L'ispezione di poche foglie, come spesso capita di esaminare in laboratorio, non è sufficiente per

eseguire una corretta diagnosi delle fitoplasmosi. Ogni campionamento deve essere accompagnato dalla raccolta di dati e informazioni utili a valutare e a riconoscere, anche a distanza, il tipo di malattia. Per tale scopo si rende opportuno registrare il comportamento delle piante ammalate, l'andamento epidemico della fitopatia, i principali fattori agronomici, pedologici, eco-climatici, nonché gli interventi colturali e di difesa fitosanitaria realizzati nelle ultime annate.

Per zone e vigneti in cui le malattie da fitoplasmi possono ancora rappresentare una novità, è importante eseguire attenti e scrupolosi sopralluoghi nei vigneti in cui sono palesi i sintomi ascrivibili ai giallumi, provvedendo alla raccolta di campioni di foglie da esaminare con saggi molecolari. Anche in questo caso bisogna usare alcune particolari attenzioni per effettuare un corretto campionamento, scegliendo le foglie con sintomi bene evidenti e in buono stato di conservazione, evitando di raccogliere quelle che presentano nervature già necrotizzate, come pure impedendo il deterioramento del campione per esposizione al sole o al congelamento prima di arrivare al laboratorio.

Nelle aree definite di nuovo insediamento e in quelle di espansione della fitoplasmosi, si rendono necessarie accurate ispezioni in vigneto e sistematici monitoraggi per individuare la presenza di viti sintomatiche e per seguire l'evoluzione delle epidemie. In contemporanea deve essere monitorata la presenza di insetti vettori di fitoplasmi, in particolare di *S. titanus*, cicalina vettrice della flavescenza dorata.

### Bibliografia

BORGIO M. (1998) - *Riconoscimento di viti affette da malattie da fitoplasmi*. Inf. agrario, 54 (24): 51-63.  
BORGIO M., EGGER E. (1983) - *Diffusione di una malattia virus-simile su "Chardonnay" e altre cultivar nel Veneto*. Inf. agrario, 16: 25547-25556.  
CAUDWELL A. (1981) - *La flavescence dorée de la vigne en France*. Phytoma, 325: 16-19.

LEVADOUX L. (1955) - *Rapport sur l'état sanitaire et la sélection du 22Baco*. Agriculture, 172: 257-259.  
RAVAZ L., VERGE G. (1924) - *Le Rougeau de la vigne*. Prog. Agr. et Vit., 79: 11-17, 86-89, 110-113, 135-141.



## 4. Attività svolta e programma di monitoraggio dei giallumi e dei loro vettori in Toscana

Piero Braccini, Alessandro Paoli, Giovanni Vettori

### 4.1 Premessa

In Toscana le prime segnalazioni di giallumi risalgono a metà degli anni ottanta (Conti, 1986; Egger e Grasselli, 1988), principalmente sulla cultivar Chardonnay e in misura molto minore su Pinot Bianco, Sangiovese e Trebbiano. Nel 1995 risultò positivo al fitoplasma appartenente al gruppo del giallume dell'olmo (16SrV) un campione di Chardonnay, proveniente da un vigneto in provincia di Siena (Bianco *et al.*, 1996).

A partire dalla seconda metà degli anni novanta l'ARSIA iniziò a occuparsi di giallumi della vite, a causa del crescente numero di segnalazioni di piante sospette da parte di tecnici e agricoltori. In questi anni l'Agenzia iniziò nei vigneti della regione i monitoraggi sia delle piante sintomatiche, sia dei potenziali vettori. Nel 2000, con l'emanazione del Decreto Ministeriale 32442 di lotta obbligatoria alla flavescenza dorata della vite, la competenza dei controlli e delle direttive tecniche di intervento è stata acquisita dall'ARPAT - Servizio Fitosanitario Regionale. Nell'ultimo periodo l'ARSIA ha svolto, principalmente, attività di divulgazione, supporto tecnico e diagnostica molecolare per i fitoplasmi della vite, con la consulenza specialistica dell'Università di Bologna. L'Agenzia ha anche fornito la propria collaborazione all'attività dell'ARPAT e ha monitorato alcuni vigneti campione.

Dal 2003 la Regione Toscana - Direzione Generale dello Sviluppo Economico, Settore Produzioni agricole ha finanziato i programmi di monitoraggio della flavescenza dorata e del suo vettore *S. titanus*, realizzati dall'ARPAT - Servizio Fitosanitario Regionale, in collaborazione con l'ARSIA.

### 4.2 Attività svolta in Toscana di monitoraggio dei giallumi della vite e dei potenziali insetti vettori

#### *Attività di monitoraggio della flavescenza dorata e degli altri giallumi della vite*

Nel biennio 1998-99 sono state effettuate indagini di diagnostica molecolare su campioni sintomatici di Chardonnay, Trebbiano toscano, Cilieggiolo, Albarola e Vermentino provenienti da diverse località delle province di Firenze, Prato, Siena, Arezzo, Grosseto, Massa-Carrara e Lucca. Questa attività ha visto coinvolte l'ARSIA, l'Università di Bologna e l'Università di Pisa. Dal monitoraggio è emersa, sui suddetti vitigni, la presenza del fitoplasma associato alla malattia del legno nero (gruppo 16SrXII-A) (Sfalanga *et al.*, 1999; Osti e Triolo, 1999; Braccini *et al.*, 2000). L'attività promossa dall'ARSIA ha consentito per la prima volta di verificare che i sintomi di giallumi della vite presenti in Toscana fino ad allora erano dovuti, con molta probabilità, solo alla malattia del legno nero e non alla ben più temuta fitoplasmosi della flavescenza dorata. Nel 2000 l'indagine di diagnostica molecolare su campioni sintomatici ha visto il coinvolgimento anche dell'Istituto Sperimentale di Viticoltura - Sezione di Arezzo e dell'ARPAT - Servizio Fitosanitario Regionale. Il risultati del monitoraggio hanno confermato la presenza del solo fitoplasma associato al legno nero sulle principali cultivar dei più importanti ambiti viticoli regionali (Sfalanga *et al.*, 2001). Quest'ultima indagine ha incluso anche il Canaiolo tra i vitigni positivi al legno nero e ha rilevato, per la prima volta su viti toscane, la presenza del fitoplasma del gruppo del giallume dell'astro (16SrI-B).

A partire dal 2001 si è assistito a un progressivo aumento dell'attività di monitoraggio dei vi-

gneti in tutta la Toscana. Nel 2001 i campioni di vite sintomatici analizzati con diagnostica molecolare sono stati 52, mentre nel 2002 sono stati 79. In quest'ultimo anno è stato trovato il primo vigneto con presenza di flavescenza dorata in Toscana (Bertaccini *et al.*, 2003). Il campione fu raccolto in un impianto situato nel comune di Montignoso, nell'ambito di un sopralluogo effettuato dall'ARPAT - Servizio Fitosanitario Regionale, insieme all'ARSIA. Si trattava di una cultivar a bacca rossa non identificata, dato che era un impianto molto vecchio. Furono prelevati tre campioni, tutti e tre risultati positivi. Il monitoraggio di quest'ultimo biennio interessò anche la provincia di Pistoia, fino ad allora non coinvolta, e furono trovati positivi al legno nero anche altri vitigni, di diffusione locale, come la Pollera, o di provenienza estera, come il Cabernet Sauvignon, o di una certa importanza economica, come il Montepulciano e varie cultivar da colore.

Nel 2003 sono stati analizzati con diagnostica molecolare 181 campioni di vite sintomatici, mentre nel 2004 ne sono stati esaminati 314. I risultati di questi due ultimi anni hanno evidenziato la presenza di flavescenza dorata in nuovi impianti viticoli della regione. In particolare nel 2003 questa malattia è stata rinvenuta in impianti di Sangiovese situati nel comune di Fosdinovo, in provincia di Massa-Carrara. Nel 2004 è stata trovata flavescenza dorata, oltre che negli stessi impianti dell'anno precedente, anche in altri vigneti del comune di Fosdinovo, in cultivar Albarola, Cilieggiolo, Vermentino e Sangiovese e in impianti di uva a bacca rossa e bianca nei comuni di Aulla, Licciana Nardi e Podenzana. Sono state anche rilevate infezioni miste di FD/LN in Albarola, Cilieggiolo, Vermentino e in un vitigno rosso non identificato. In questi comuni la situazione può diventare estremamente critica e si rende quindi necessario un accurato monitoraggio, perché possano essere adottati gli opportuni provvedimenti dall'ARPAT per evitare l'espandersi della malattia. I suddetti campioni sono stati prelevati per la maggior parte dall'ARPAT - Servizio Fitosanitario Regionale. Questa stessa struttura ha rinvenuto la flavescenza dorata in un campione proveniente da un vigneto, probabilmente di Merlot, situato nel comune di San Casciano, in provincia di Firenze. Questo rinvenimento è avvenuto in un impianto giovane, dove non è stata osservata presenza del vettore *Scaphoideus titanus*.

Le analisi molecolari dei campioni sono state effettuate presso i laboratori dell'ARPAT - Servizio Fitosanitario Regionale, dell'ARSIA e del Laborato-

rio di Fitoplasmologia dell'Università di Bologna, diretto dalla prof.ssa Assunta Bertaccini, che ha anche assicurato il supporto scientifico all'attività di diagnostica molecolare svolta nei vari laboratori.

L'ARSIA, a partire dal 2000, ha iniziato un'attività di monitoraggio delle piante sintomatiche in alcuni vigneti situati nelle province di Siena, Firenze, Prato, Pistoia (Braccini *et al.*, 2002). L'indagine è arrivata a coinvolgere nel 2004 oltre 15.700 piante di diversa età d'impianto e delle cultivar Chardonnay (oltre 4.100 piante), Sangiovese (oltre 8.900 piante), Cabernet Sauvignon e Merlot (oltre 2.600 piante). Gli ambienti dei vari vigneti differiscono fra loro anche per le tecniche colturali adottate, per la posizione altimetrica e per la differente vegetazione erbacea e arbustiva presente nelle aree limitrofe. In tutti gli impianti esaminati ogni anno è stata riscontrata la presenza del fitoplasma associato al legno nero della vite. I risultati ancora parziali stanno evidenziando un'elevata incidenza annuale di piante sintomatiche sul vitigno Chardonnay, con valori percentuali, riferiti al totale delle piante presenti, sempre superiori al 15% e livelli di oltre il 30%. I sintomi rilevati erano a livello fogliare e si registrava la presenza di un progressivo disseccamento dei grappoli. L'incidenza annuale del legno nero sul vitigno Sangiovese ha raggiunto una punta massima (sopra l'8%) in una situazione particolarmente critica e valori che frequentemente oscillano tra l'1 e il 3%.

#### *Attività di monitoraggio dei potenziali insetti vettori del legno nero della vite*

Nel quinquennio 1995-99 è stato svolto in Toscana, su iniziativa dell'ARSIA, un monitoraggio sugli Auchenorrhinchi presenti in 13 vigneti, situati in località diverse, che presentavano sintomi di giallumi; in particolare era stata rilevata la presenza del legno nero della vite (Braccini, Pavan, 2000a, 2000b). L'indagine ha permesso di identificare 51 specie. Inoltre *Hyaletthes obsoletus*, fino a oggi riconosciuto come unico vettore del legno nero della vite, era stato rinvenuto solo in sei dei tredici vigneti monitorati. Questo dato tendeva ad avvalorare l'ipotesi che nella trasmissione di questa fitoplasma potessero essere coinvolti altri vettori. Negli ultimi anni è stata segnalata nell'ecosistema del vigneto toscano la presenza anche di specie del genere *Reptalus* spp. della famiglia dei Cixiidi (Mazzoni *et al.*, 2001). In particolare *Reptalus quinquecostatus* è stato rinvenuto dall'ARSIA anche in alcuni vigneti situati in provincia di Prato e Pistoia (identificati dal dr. Francesco Pavan dell'U-

niversità di Udine). Questa specie è molto interessante come potenziale vettore del legno nero, in quanto l'adulto si cattura facilmente sulle foglie di vite già da fine giugno e fino ad agosto. Inoltre, esemplari di *Reptalus* spp., raccolti su piante di olmo campestre limitrofe a un vigneto, sono stati trovati positivi al fitoplasma del legno nero (P. Braccini e A. Bertaccini, dati non pubblicati).

**Attività di monitoraggio  
di *Scaphoideus titanus*, insetto vettore  
della flavescenza dorata**

*Scaphoideus titanus* è stato rinvenuto per la prima volta in Toscana nel 1998 da Santini e Lucchi in due vigneti situati in provincia di Massa Carrara (Santini e Lucchi, 1998). Nello stesso anno l'ARSIA rilevò la presenza del vettore in un'azienda viticola ubicata nel comune di Massa, nella zona viticola del Candia (Braccini e Pavan, 2000a, 2000b). Nel 1999 questa cicadina è stata trovata anche in vigneti della provincia di Lucca, nella località Strettoia (al confine con la provincia di Massa-Carrara) e nella zona della Val Freddana (Osti *et al.*, 2000; Lucchi *et al.*, 2000). Monitoraggi effettuati dall'ARSIA nel 2000, in provincia di Lucca, non hanno rilevato la presenza dello scafoideo in vigneti situati nel comune di Montecarlo e nelle località Cappella (Lucca) e San Pancrazio (Capannori). Nel corso degli anni è aumentata la superficie viticola interessata dal monitoraggio, che ha cercato di coprire prima di tutto i vivai viticoli e gli impianti di vite madre marze e portinnesto. Quest'attività è stata svolta dall'ARPAT nell'ambito delle sue competenze istituzionali. L'ARSIA ha collaborato con tale struttura nel monitoraggio degli impianti ritenuti più a rischio e situati nelle diverse aree viticole della regione. Con un progressivo impegno economico e di risorse umane si è arrivati al 2003, anno che ha visto il ritrovamento del vettore in nuove aree viticole regionali. L'ARPAT - Servizio Fitosanitario Regionale ha individuato *S. titanus* in due vigneti situati in provincia di Siena, uno in un vigneto nel comune di San Gimignano e l'altro in un impianto biologico, nel comune di Radda in Chianti. Nella provincia di Massa-Carrara si arrivava alla constatazione di una quasi generalizzata presenza del vettore nelle varie zone viticole. Lo scafoideo è stato rinvenuto dall'ARPAT anche in un vigneto situato nel comune di Fucecchio. Per il momento si è constatata l'assenza della cicadina nell'area vivaistica di Cenaia, in provincia di Pisa. Nel 2003 partiva l'attività promossa dall'ARSIA,



1. Adulto di *Scaphoideus titanus*



2. Adulto di *Hyalesthes obsoletus*



3. Sintomi fogliari di fitoplasmosi



**4. Sintomi fogliari  
in Sangiovese**

che prevede la collaborazione dei tecnici delle Organizzazioni Professionali Agricole per il monitoraggio del vettore in tutte le aree viticole della regione. In questo modo si sono raggiunte circa 200 aziende, significative per la viticoltura regionale. Questa iniziativa è continuata nel 2004 e ha permesso il rinvenimento di *S. titanus* in vigneti ubicati in località Gragnano nel comune di Capannori (LU) e in località Panzano, nel comune di Greve in Chianti (FI). Nel corso del 2004 l'attività di monitoraggio dell'ARPAT - Servizio Fitosanitario Regionale ha consentito di trovare la cicalina in nuovi impianti situati nei comuni di Castellina in Chianti (1 vigneto), Gaiole in Chianti (2 vigneti), San Gimignano (1 vigneto), Radda in Chianti (2 vigneti) e Barberino Val d'Elsa (3 vigneti), nelle province di Siena e Firenze. L'Istituto Sperimentale per la Viticoltura - Sezione di Arezzo ha rinvenuto il vettore in un impianto situato nel comune di Cavriglia, in provincia di Arezzo. Le aziende viticole monitorate nei vari comuni sono poche rispetto al loro numero totale e la cicalina è stata trovata, generalmente, solo in alcune delle trappole installate e con un numero di individui non molto elevato. Alcune delle aziende dove l'insetto è stato rinvenuto adottano metodi di coltivazione biologici e i vigneti, generalmente, sono giovani con alcuni casi di vitigni di provenienza estera. Queste note portano ad affermare che è necessario incrementare notevolmente il monitoraggio per cercare di valutare l'effettiva diffusione di *S. titanus*.

#### **4.3 Linee di intervento del programma di monitoraggio della flavescenza dorata e dell'insetto vettore *Scaphoideus titanus***

I risultati dell'attività di monitoraggio di questi ultimi anni hanno evidenziato una situazione potenzialmente pericolosa per la viticoltura in provincia di Massa-Carrara, considerando i nuovi impianti viticoli trovati positivi al fitoplasma associato alla flavescenza dorata. Nella restante parte della regione i dati indicano una situazione di incertezza, considerando i nuovi rinvenimenti di *Scaphoideus titanus* nelle aree interne della regione. Inoltre ci sono alcune province in cui l'attività di monitoraggio è stata insufficiente e quindi non si è in grado di valutare, con una certa sicurezza, la reale presenza della malattia e del suo vettore in tali realtà viticole. In questo elenco delle province dove dovrà essere aumentata l'attività di monitoraggio ci sono senz'altro Pisa, Livorno, Pistoia, Lucca e Grosseto.

L'ARPAT - Servizio Fitosanitario Regionale ha emanato le misure di attuazione per la lotta obbligatoria alla flavescenza dorata e all'insetto vettore *S. titanus*. Tali direttive indicano 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 tutti i vivaisti viticoli. Queste sono disposizioni transitorie, limitate al 2005, a

forte impatto ambientale, ma di carattere preventivo, per evitare pericolose epidemie di flavescenza dorata nei nostri vigneti. Da questo si evince l'indiscutibile necessità di aumentare oggi e nei prossimi anni l'attività di monitoraggio della malattia e del suo vettore, per limitare ad ambiti territoriali più ristretti gli interventi obbligatori di contenimento. Il monitoraggio, sia delle piante sintomatiche per l'esame di diagnostica molecolare, sia della presenza dell'insetto vettore *S. titanus*, deve consentire un'attività minima in tutte le province toscane. Inoltre sarebbe opportuno adottare i seguenti criteri di priorità nella scelta degli impianti da monitorare: vivai viticoli e vigneti di piante madre marze e portinnesto, vigneti biologici, impianti viticoli sotto i 15 anni, soprattutto in presenza di cultivar

di origine estera e vigneti abbandonati.

Sarà importante garantire un'adeguata informazione agli agricoltori e ai tecnici per coinvolgerli nell'individuazione di piante sintomatiche e nel monitoraggio dell'insetto vettore. L'informazione dovrà anche indicare i momenti più opportuni per il campionamento, il monitoraggio del vettore, l'epoca e i principi attivi più opportuni da utilizzare in un possibile trattamento. Inoltre dovrà essere garantito un qualificato supporto scientifico ai tecnici che lo richiedano.

Tutti gli interventi indicati dovranno essere realizzati o promossi dall'ARPAT - Servizio Fitosanitario Regionale, in collaborazione con l'ARSIA e altre strutture tecnico-scientifiche o amministrazioni locali operanti sul territorio.

## Bibliografia

- BERTACCINI A., BOTTI S., TONOLA A., MILANO C., BRACCINI P., SFALANGA A. (2003) - *Identificazione di fitoplasmi di flavescenza dorata in vigneti della Toscana*. Inf. agrario, 21: 65-67.
- BIANCO P.A., CASATI P., DAVIS R.E., SCATTINI G. (1996) - *Two different phytoplasmas belonging to group 16SrV may occur in grapevines affected by Flavescence dorée disease*. IOM Letters, vol. 4, pp. 192-193.
- BRACCINI P., PAVAN F. (2000a) - *Auchenorrhinchi potenziali vettori di fitoplasmi associati a giallumi della vite*. Inf. agrario, 47: 103-107.
- BRACCINI P., PAVAN F. (2000b) - *Indagine sulla presenza di Auchenorrhinchi in vigneti della Toscana centrale*. Petria, 10 (2): 181-182.
- BRACCINI P., SFALANGA A., BOTTI S., MALOSI A., PAVAN F., BERTACCINI A. (2002) - *Prime osservazioni su indagini epidemiologiche in alcuni vigneti della Toscana centrale colpiti da legno nero*. Petria, 12 (3): 437-439.
- BRACCINI P., SFALANGA A., PONDRELLI M., MARTINI M., BERTACCINI A. (2000) - *Diffusione di fitoplasmi in vigneti della Toscana centrale*. Petria, 10 (2): 177-178.
- CONTI M. (1986) - *Micoplasmi e altri procarioti intracellulari, agenti fitopatogeni di crescente interesse*. Annali Accad. Agric. di Torino, 127: 1-17.
- EGGER E., GRASSELLI A. (1988) - *Diffusione in Toscana di una malattia della vite assimilabile alla flavescenza dorata sulla cultivar 'Chardonnay'*. Inf. agrario, 11: 101-105.
- LUCCHI A., COSCI F., MAZZONI V., SANTINI L. (2000) - *Preoccupante diffusione di Scaphoideus titanus Ball (Homoptera Cicadellidae) in vigneti della Liguria meridionale e della Toscana litoranea*. Petria, 10 (2): 183-185.
- MAZZONI V., COSCI F., LUCCHI A., SANTINI L. (2001) - *Leafhoppers and planthoppers vectors in Ligurian and Tuscan vineyards - Integrated Control in Viticulture*. IOBC-WPRS Bulletin, 24 (7): 263-266.
- OSTI M., TRIOLO E., LUCCHI A., SANTINI L. (2000) - *La flavescenza dorata nelle Cinque Terre*. Inf. agrario, 56: 89-91.
- OSTI M., TRIOLO E. (1999) - *Focolai di legno nero della vite in Toscana*. Inf. agrario, 18: 77-78.
- SANTINI L., LUCCHI A. (1998) - *Presenza in Toscana del cicadellide Scaphoideus titanus in due vigneti della provincia di Massa Carrara*. Inf. agrario, 49: 73-74.
- SFALANGA A., BOTTI S., GUADAGNINI M., MILANO C., EGGER E., BRACCINI P., BERTACCINI A. (2001) - *Timore per i giallumi della vite in Toscana*. Terra e Vita, 27: 78-80.
- SFALANGA A., BRACCINI P., MURARI E., MARTINI M., PARRINI C., BERTACCINI A. (1999) - *Presenza di legno nero in viti toscane*. Inf. agrario, 11: 99-102.



## **PARTE SECONDA - I Patogeni e i loro vettori**





## 5. Fitoplasm: classificazione e diagnosi

Simona Botti, Assunta Bertaccini

### 5.1 Premessa

Gli MLO (“*Mycoplasma-like organisms*”), ora denominati fitoplasm, sono agenti fitopatogeni non coltivabili *in vitro*, associati a centinaia di malattie diffuse nelle aree temperate e tropicali di tutto il mondo la cui importanza economica è notevole, dal momento che colpiscono una grande varietà di piante ornamentali, orticole, arboree, forestali e da frutto (McCoy, 1979; Marwitz, 1990). Le malattie associate alla presenza di fitoplasm sono tanto devastanti da eliminare in alcuni casi la produzione delle piante ospiti nelle regioni in cui sono endemiche o in cui vengono introdotte. L’incapacità di coltivare questi patogeni su substrati artificiali ha rallentato molto i progressi conoscitivi delle loro caratteristiche biologiche e dei processi patogenetici che portano all’insorgere della malattia, pertanto le conoscenze che si hanno sul loro rapporto con la pianta ospite, derivano principalmente da osservazioni condotte al microscopio elettronico. Sezioni ultrasottili di materiale infetto mostrano i fitoplasm come corpi unicellulari e pleomorfi, sprovvisti di parete cellulare e con un diametro compreso tra 0,1 e 1,2 micrometri, patogeni obbligati nei tubi floematici e, con buona probabilità, nelle cellule compagne. L’alto contenuto in soluti (soprattutto saccarosio e altri carboidrati), cationi ( $Mg^{++}$  e  $K^+$ ), anioni inorganici ( $Cl^-$  e  $PO_4^{3-}$ ) e amminoacidi liberi (soprattutto acido aspartico e acido glutammico) rende il floema un ambiente ad alta osmolarità, requisito fondamentale per la sopravvivenza dei fitoplasm che sono privi di parete cellulare. La loro presenza all’interno dei tubi cribrosi comporta parziale necrosi dei tessuti floematici, conseguente iperattività dei tessuti cambiali e parenchimatici, deposizione di callosio e coagulazione di proteine floematiche che causano un intasamento dei tubi cribrosi riducendo il passaggio della linfa elaborata dalle foglie ai diversi distretti della pianta.

Studi recenti hanno inoltre dimostrato che le piante infette da fitoplasm subiscono una marcata variazione nel contenuto endogeno di sostanze regolatrici della crescita (soprattutto auxine e citochinine) e di metaboliti secondari delle piante come polifenoli e alcaloidi (Musetti *et al.*, 2000); tali accentuati squilibri del metabolismo dei principali regolatori della crescita potrebbero rappresentare la reale causa delle manifestazioni sintomatologiche più marcate quali giallumi, nanismo degli organi vegetativi, proliferazione dei germogli ascellari (scopazzi) a seguito della soppressione della dominanza apicale, virescenza, ossia inverdimento delle strutture fiorali e loro frequente regressione a foglie (fillodia). Queste manifestazioni sintomatologiche sono a volte accompagnate da gigantismo o nanismo florale, necrosi radicale, allungamento o accorciamento dei segmenti internodali e arrotolamento fogliare, fasciazioni, sfasamento dei cicli vegetativi con fioriture invernali e anticipi nella ripresa vegetativa (Bertaccini e Calzolari, 1983).

L’alterazione dell’equilibrio ormonale potrebbe essere dovuta alla produzione di ormoni analoghi a quelli della pianta da parte dei fitoplasm oppure questi potrebbero metabolizzare i regolatori di crescita mutandone i livelli normali. Gli studi fisiopatologici a riguardo sono appena iniziati e non sono al momento escluse altre possibilità di interazione fitoplasma-pianta quali quella di una regolazione diretta a livello genetico da parte di molecole prodotte *ad hoc* dai fitoplasm.

### 5.2 Filogenesi, tassonomia e classificazione

L’incapacità di coltivare *in vitro* i fitoplasm rende impossibile applicare a essi i convenzionali criteri di tassonomia basati su caratteristiche fenotipiche e biochimiche quali richieste nutrizionali,

sensibilità all'ossigeno, morfotipo dell'organismo.

Una prima classificazione biologica si è basata sulla sintomatologia e sui rapporti patogeno-vettore e distingueva i fitoplasmi in agenti di virescenza e fillodia e in agenti di deperimento e nanismo; una ulteriore differenziazione, inoltre, discriminava i fitoplasmi in base a valutazioni delle specie di insetti vettori e alle caratteristiche di trasmissibilità del patogeno. Grazie agli apporti delle tecniche di biologia molecolare si è costruito un sistema di inquadramento tassonomico e filogenetico basato sulle caratteristiche molecolari e genetiche salienti di questi patogeni.

A causa dell'assenza di parete cellulare i fitoplasmi sono stati classificati, fin dai tempi della loro prima scoperta nel 1967, come appartenenti alla classe dei *Mollicutes*, organismi con cui condividono, oltre al pleomorfismo, anche un genoma di piccole dimensioni (600-1200 kb), portato da un singolo cromosoma con un basso contenuto in G-C (20-30%). Studi condotti tramite sonde a DNA hanno dimostrato che in quasi tutti gli isolati di fitoplasmi è presente anche DNA extracromosomico con struttura simile a quella dei plasmidi batterici le cui sequenze manifestano però in alcuni casi anche somiglianze con virus fitopatogeni (Kuboyama *et al.*, 1998; Oshima *et al.*, 2001; Nishigawa *et al.*, 2001, 2002a, 2002b). La sequenza completa del genoma del fitoplasma associato al giallume della cipolla (*Onion yellows phytoplasma* = OY) è recentemente stata pubblicata da un gruppo di ricercatori giapponesi (Oshima *et al.*, 2004) così come circa il 50% delle sequenze del cromosoma del fitoplasma WX (*Western X disease*) (Liefing e Kirkpatrick, 2003).

Dall'analisi delle sequenze del genoma del fitoplasma OY sono emerse conoscenze biochimiche e fisiologiche: sembra infatti che questi patogeni manchino di geni prima considerati essenziali per organismi in grado di replicarsi autonomamente, mentre hanno un potenziato sistema di trasportatori di substrati specifici dall'ambiente esterno, ricco di nutrienti, verso il loro citoplasma. Il sequenziamento effettuato fa ritenere che durante l'evoluzione i fitoplasmi abbiano perso quei geni che avrebbero permesso loro di crescere *in vitro* a seguito di una interazione divenuta definitiva con i loro ospiti vegetali o animali. Infatti il genoma di 860 kb di questo fitoplasma codifica un numero inferiore di funzioni metaboliche rispetto a quelle codificate dal genoma di micoplasmi. Si ritiene che i fitoplasmi abbiano perso la capacità di biosintesi di amminoacidi e acidi grassi, del ciclo dell'acido tricarbossilico e della fosforilazione ossidativa. Di-

versamente dai micoplasmi hanno anche perso i geni per il sistema di fosfotransferasi e per la metabolizzazione del galattosio-UDP a glucosio 1-fosfato e delle subunità ATP-sintetasi considerate essenziali per la vita. Probabilmente questo è il risultato di un'evoluzione riduttiva come conseguenza di una vita parassitaria intracellulare in un ambiente ricco di nutrienti (Oshima *et al.*, 2004). In seguito al sequenziamento di questo fitoplasma sono state rintracciate porzioni genomiche codificanti diverse categorie di proteine fra cui alcune con attività catalitica (timidilato chinasi: TMK) (Miyata *et al.*, 2003), altre con attività traslocasica (sistema Sec) e altre ancora con attività antigenica di membrana (Amp) (Kakizawa *et al.*, 2004).

Lavori di omologia genica hanno rivelato anche la presenza di due pseudogeni della biosintesi del folato nel fitoplasma CPh (*Clover Phyllody*). Gli pseudogeni sono omologhi dei geni *folP* e *folK*, i quali codificano rispettivamente una sintasi e una pirofosforochinasi, in alcuni batteri. Durante l'evoluzione i fitoplasmi avrebbero perso molte funzioni, attraverso la formazione di questi pseudogeni, con la conseguente perdita della via di biosintesi del folato, acquisendo un sistema di trasporto del composto, per assorbimento di quello preformato nella cellula ospite (Davis *et al.*, 2003).

Un ruolo fondamentale nella costruzione degli inquadramenti filogenetici e tassonomici dei fitoplasmi ha l'analisi comparativa di sequenze genomiche particolarmente conservate durante l'evoluzione come, ad esempio, quella codificante l'rRNA ribosomico 16S (Lee *et al.*, 1993; Namba *et al.*, 1993a, 1993b; Schneider *et al.*, 1995). L'organizzazione complessiva dell'operone rRNA dei fitoplasmi è uguale a quella degli altri procarioti in quanto contiene le tre molecole di rRNA nell'ordine 16S-23S-5S; nei fitoplasmi però tra le sequenze degli rRNA 16S e 23S, si trova una regione spaziatrice (*spacer region*) di circa 300 nucleotidi, che viene parzialmente trascritta. Dal confronto tra le sequenze 16S di organismi diversi tutti appartenenti alla classe dei Mollicuti e di procarioti tipici, è scaturita l'ipotesi secondo cui i Mollicuti potrebbero derivare da un progenitore ancestrale batterico Gram positivo e clostridio-simile, appartenente alla linea evolutiva dei Lattobacilli, che si suppone abbia perso, nel corso dell'evoluzione, la capacità di sintetizzare la parete cellulare per un fenomeno di degenerazione evolutiva (Weisburg *et al.*, 1989; Maniloff, 1992).

L'analisi RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), condotta sul gene codificante l'rRNA 16S ha consentito di costruire una suddivisione dei

**Tab. 1 - Schema riassuntivo della classificazione dei fitoplasmi\***

Gruppo	Denominazione del ceppo di riferimento
16SrI	<i>Aster yellows</i>
16SrII	<i>Peanut witches' broom</i>
16SrIII	<i>X-disease</i>
16SrIV	<i>Coconut lethal yellows</i>
16SrV	<i>Elm yellows</i>
16SrVI	<i>Clover proliferation</i>
16SrVII	<i>Ash yellows</i>
16SrVIII	<i>Loofah witches' broom</i>
16SrIX	<i>Pigeon pea witches' broom</i>
16SrX	<i>Apple proliferation</i>
16SrXI	<i>Rice yellow dwarf</i>
16SrXII	<i>Stolbur</i>
16SrXIII	<i>Mexican periwinkle virescence</i>
16SrXIV	<i>Bermuda grass white leaf</i>
16SrXV	<i>Hibiscus witches' broom</i>

\* Secondo Lee *et al.*, 1998 e Montano *et al.*, 2001.

fitoplasmi conosciuti in 15 gruppi ribosomici (gruppi 16Sr) e di individuare al loro interno un numero complessivo di circa 40 sottogruppi (Lee *et al.*, 1998; Montano *et al.*, 2001) (*tab. 1*).

Questo approccio tecnico ha portato a ottenere un semplice e attendibile sistema di differenziazione e di classificazione di molti ceppi di fitoplasmi realizzabile in tempi molto brevi e con risultati che, nella maggior parte dei casi, sono consistenti con quelli ottenuti dalla parallela indagine filogenetica condotta con i più complessi e completi metodi molecolari (Lee *et al.*, 1992).

Il gene 16S a causa della sua bassa variabilità risulta insufficiente per distinguere più finemente i fitoplasmi. L'analisi di altre sequenze quali quelle codificanti proteine ribosomiche (rpS3, rpL22), fattori di allungamento (EF-tu) oltre allo spazio intergenico 16S/23S rRNA sono stati utilizzati come strumento supplementare per la differenziazione dei fitoplasmi e confermano che l'analisi del solo gene 16S risulta insufficiente per distinguere ceppi di fitoplasmi strettamente correlati geneticamente (Gundersen *et al.*, 1996; Guo *et al.*, 1998; Kirkpatrick *et al.*, 1994; Schneider *et al.*, 1997; Botti e Bertaccini, 2000, 2003; Bertaccini *et al.*, 2002; Bertaccini, 2002).

Occorre inoltre sottolineare che a causa della mancanza di sufficienti caratteristiche fenotipiche per questi patogeni non è prevista la distinzione in genere e specie ma si può parlare di *Candidatus*; si

introduce un nuovo "*Candidatus* Phytoplasma" quando esso condivide una omologia inferiore al 97,5% sul gene 16S (1500 nucleotidi) rispetto a fitoplasmi già descritti; tale limite è stato fissato in quanto al di sotto di esso è improbabile che gli organismi comparati condividano più del 60-70% di omologia a livello genomico e si tratta quindi di organismi correlati solo a livello di specie (Stackebrandt e Goebel, 1994). È comunque possibile che fitoplasmi che mostrano sul 16S una omologia che supera o eguaglia la soglia sopra citata abbiano caratteristiche molto differenti a livello biologico (vettori), fitopatologico (gamma di ospiti vegetali, sintomatologia indotta) ed ecologico. Si è quindi convenuto che è possibile definire nuovi *Candidati* per distinguere casi particolarmente importanti, in cui risultino coinvolti patogeni da quarantena come, ad esempio, i fitoplasmi dei fruttiferi e quelli della vite (IRPCM, 2004). A oggi sono stati pubblicati 26 *Candidatus* genere-specie con caratteristiche molecolari definite. Rimangono comunque da definire le caratteristiche biologiche di questi fitoplasmi prima di arrivare a una classificazione ufficialmente riconosciuta a livello tassonomico con genere e specie.

### 5.3 Metodi diagnostici

Fino a circa 15-20 anni fa la differenziazione e la classificazione dei fitoplasmi si basavano fondamentalmente su alcune loro proprietà biologiche quali la morfologia, l'habitat, la specificità di insetti vettori e di piante ospiti e sulla sintomatologia da essi indotta. La maggior parte delle indagini era condotta al microscopio elettronico o al microscopio a fluorescenza (colorazione del DNA con il fluorocromo DAPI), ma entrambe queste tecniche, oltre a essere molto laboriose, si sono nel tempo rivelate di scarsa attendibilità a fini diagnostici (i fitoplasmi sono spesso presenti nei tubi cribrosi infetti in concentrazioni talmente esigue da non potere essere rilevati) e praticamente inutilizzabili anche da un punto di vista tassonomico. Analogamente i fenomeni di convergenza sintomatologica e di condivisione del medesimo insetto vettore da parte di fitoplasmi presumibilmente diversi, rendevano di scarsa attendibilità anche le osservazioni condotte sulle piante infette e sui vettori.

Con l'introduzione di tecniche molecolari, la sintomatologia non è risultata più conveniente per la differenziazione dei fitoplasmi in quanto i raggruppamenti, ottenuti mediante profili di ibrida-

zione o studi sui DNA ribosomici, erano poco correlati ai sintomi indotti dai diversi ceppi: fitoplasmi lontanamente correlati causavano sintomi notevolmente simili in ospiti comuni, mentre fitoplasmi correlati strettamente potevano indurre sintomi tra loro molto diversi (Lee *et al.*, 1992). L'applicazione delle tecniche molecolari allo studio delle fitoplasmosi, ha completamente rivoluzionato la ricerca su questi patogeni accorciando sensibilmente i tempi di lavoro e aumentando il grado di affidabilità dei risultati ottenuti ai fini di indagini diagnostiche, epidemiologiche e anche di inquadramento tassonomico.

L'uso di sonde molecolari fitoplasma-specifiche, ottenute per clonazione "random" da estratti di piante infette (Kirkpatrick *et al.*, 1987), la produzione di anticorpi mono- e policlonali (Sinha, 1979; Sinha e Benhamou, 1983; Clark *et al.*, 1983, 1989; Lin e Chen, 1985; Fos *et al.*, 1992) impiegati in indagini sierologiche tramite ELISA, e gli esperimenti di ibridazione per valutare il grado di omologia tra le sonde sopra citate e gli isolati di fitoplasmi, hanno consentito di chiarire, almeno in parte, alcune delle relazioni tassonomiche tra fitoplasmi diversi (Lee e Davis, 1988; Bertaccini *et al.*, 1990; Kuske *et al.*, 1991; Deng e Hiruki, 1991; Lee *et al.*, 1991, 1992, 1993b; Davis *et al.*, 1992). In ogni caso, il grado di sensibilità di tali metodologie molecolari è risultato ancora troppo scarso per le infezioni da fitoplasmi specialmente in piante arboree ove la concentrazione di patogeno può essere estremamente bassa; ciò ha stimolato la ricerca di tecniche diagnostiche più sensibili, specifiche, rapide e di basso costo.

L'avvento della tecnica PCR (*Polymerase Chain Reaction*), in grado di amplificare selettivamente sequenze genomiche del fitoplasma sfruttando oligonucleotidi specifici che non ibridano con il DNA della pianta ospite (sempre presente come "background"), ma esclusivamente con quello del patogeno, ha aperto nuovi e ampi orizzonti di studio. L'uso di PCR diretta e *nested* sono infatti i metodi di individuazione selettiva di sequenze geniche più sensibili dal momento che permettono di evidenziare la presenza di fitoplasmi anche quando questi si trovano nel floema in concentrazioni molto basse. La reazione a catena della polimerasi si basa sull'attività di un enzima termostabile, chiamato *Taq* polimerasi, isolato dal batterio *Thermophilus aquaticus* che vive nelle sorgenti di acqua calda, in grado di sintetizzare numerose copie di una porzione di DNA che funge da stampo (*template*). Perché tale reazione di sintesi avvenga, l'enzima deve avere a disposizione una mi-

sceola contenente DNA denaturato, cioè a singola elica, ottenuto per riscaldamento, un apposito innesco della reazione rappresentato da una coppia di oligonucleotidi sintetici detti "*primers*", i quattro nucleotidi trifosfati d-ATP, d-GTP, d-CTP, d-TTP, e infine opportune condizioni chimico-fisiche determinate in funzione della composizione in basi azotate dei *primers* utilizzati e del tipo di acido nucleico da amplificare. L'amplificazione di un determinato segmento genico si realizza grazie alla ripetizione ciclica delle fasi di denaturazione del DNA stampo, di *annealing* o attacco degli oligonucleotidi al *template* e, infine, di allungamento o sintesi della catena nucleotidica operata dalla polimerasi.

Il protocollo diagnostico comunemente utilizzato nella diagnosi per l'identificazione dei fitoplasmi prevede, come prima fase operativa, l'estrazione del DNA totale dal materiale vegetale sintomatico; la scelta del protocollo di estrazione più opportuno risulta una fase estremamente importante dalla quale può dipendere l'esito dell'intero procedimento diagnostico. In genere la scelta di una procedura di estrazione dipende dal tipo di materiale di partenza (pianta erbacea o legnosa, materiale fresco o congelato, insetti); si alternano quindi protocolli laboriosi e pericolosi per l'operatore, dal momento che prevedono l'impiego di reagenti tossici come cloroformio e fenolo, ma il cui prodotto risulta privo di inibitori e duraturo nel tempo (Prince *et al.*, 1993) e protocolli più rapidi ed economici che permettono di ottenere però un DNA meno puro e più facilmente degradabile nel tempo (Pasquini *et al.*, 2001).

Sul DNA così ottenuto la procedura diagnostica di routine prevede l'applicazione della tecnica PCR sopra descritta utilizzando coppie di oligonucleotidi universali (in grado di amplificare porzioni del genoma di tutti i fitoplasmi conosciuti) o specifici (in grado di amplificare regioni genomiche solo di alcuni gruppi di fitoplasmi). Dal momento che, come già detto, i fitoplasmi sono in genere in basse concentrazioni all'interno del floema delle piante arboree infette, raramente una sola reazione di PCR risulta sufficiente per rilevare un fitoplasma in un estratto vegetale; al fine di aumentare la sensibilità del saggio diagnostico si ricorre molto frequentemente alla reazione di PCR-*nested* ovvero a una normale reazione di PCR che però viene effettuata utilizzando *primers* che si legano a regioni interne al prodotto di una prima amplificazione genica (PCR diretta) che funge da stampo.

Il risultato di ogni reazione di amplificazione genica viene visualizzato mediante corsa elettrofo-

retica in gel di agarosio e colorazione in bromuro di etidio. Normalmente i primi saggi di PCR effettuati su un estratto sono volti alla collocazione tassonomica del fitoplasma individuato nel materiale vegetale saggiato; a tal fine viene amplificata la regione codificante l'rRNA 16S ovvero la sequenza altamente conservata utilizzata comunemente come parametro tassonomico per i fitoplasmi, così come per molti altri organismi procariotici.

La positività di un campione vegetale al saggio PCR non permette la diretta collocazione tassonomica del fitoplasma individuato, ma conferisce solo indicazione sulla presenza di fitoplasmi nel campione vegetale saggiato; per tipizzare il fitoplasma individuato nel campione si rende necessaria l'applicazione di un ulteriore saggio chiamato analisi RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) (Bertaccini *et al.*, 1995, 1996, 1998, 1999, 2001; Padovan *et al.*, 1995; Martini *et al.*, 1999, 2002; D'Ascenzo *et al.*, 2003).

L'analisi RFLP è una tecnica che sfrutta la capacità di alcuni enzimi, detti *enzimi di restrizione*, di tagliare gli acidi nucleici in corrispondenza di specifiche sequenze di basi azotate producendo in tal modo frammenti di lunghezze specifiche per ogni molecola di acido nucleico digerito. La miscela di digestione, contenente circa 100-200 ng di prodotto amplificato in PCR, un enzima di restrizione nel suo tampone di incubazione e acqua sterile, viene poi lasciata incubare alla temperatura richiesta dallo specifico enzima utilizzato (in genere 37°C o 65°C) e per un tempo minimo di 16 ore. I frammenti originati dal taglio enzimatico vengono separati solitamente in gel di poliacrilammide producendo profili di restrizione tipici di ogni specifico raggruppamento tassonomico.

La fase di estrazione del DNA totale dai campioni vegetali risulta essere particolarmente importante anche perché sull'acido nucleico estratto è possibile applicare tecniche diverse da PCR; in particolare i tipi di tecniche più frequentemente applicate sono:

*Ibridazione molecolare*: tecnica che utilizza la capacità di un frammento di DNA marcato, detto *sonda* ("a caldo" se marcata con un atomo radioattivo o "a freddo" se marcata con una molecola non radioattiva rilevabile con metodi immunoenzimatici), di ibridare con sequenze a essa complementari presenti sul genoma "*target*" (nel nostro caso, il genoma del fitoplasma eventualmente presente nel campione vegetale saggiato). La reazione di ibridazione può esse-

re effettuata sul DNA estratto trasferito su membrana (*dot blot*) o direttamente su sezioni ultrasottili di tessuto vegetale opportunamente fissato su un supporto. Nella diagnosi delle malattie da fitoplasmi questa tecnica è di facile applicazione per campioni provenienti da piante erbacee, mentre risulta meno adatta per individuare fitoplasmi in piante arboree o legnose.

*"Real-time" PCR*: tecnica di recente acquisizione evoluta dalla PCR convenzionale che sfrutta un sistema ottico per il rilevamento della fluorescenza fissato su un normale termociclatore. Tale tecnica è definita "*Real-time*" dal momento che permette di seguire in tempo reale la produzione dell'amplicone a partire dal DNA *template* e PCR quantitativa poiché consente di misurare la quantità di DNA *target* presente all'interno del campione analizzato prima della reazione. L'amplificazione genica viene monitorata nel tempo grazie alla capacità del dispositivo ottico accoppiato al termociclatore di percepire l'aumento di fluorescenza all'interno della miscela di reazione.

La variazione della fluorescenza avviene a ogni ciclo di amplificazione grazie alla presenza all'interno della miscela di reazione di un sistema di generazione di fluorescenza che può essere aspecifico ("SYBR® Green") o specifico (chimica "TaqMan"). Nel primo caso si tratta di una molecola fluorescente che si intercala in maniera aspecifica alla doppia elica di DNA e in questo stato legato aumenta notevolmente la propria emissione di fluorescenza; con l'aumento delle doppie eliche di DNA prodotte a ogni ciclo dalla reazione PCR aumenta esponenzialmente anche il numero di molecole fluorescenti legate e quindi anche il livello di emissione di fluorescenza. La chimica "TaqMan" invece permette di monitorare in tempo reale l'amplificazione di uno specifico DNA; la specificità del saggio è legata all'impiego nella miscela di reazione di una sonda marcata al 3' e al 5' con due fluorofori diversi, definiti "*quencher*" e "*reporter*". La sonda deve essere complementare a una sequenza collocata all'interno delle posizioni di *annealing* dei due *primers* utilizzati per l'amplificazione genica. In condizioni di sonda integra i due fluorofori si trovano uno rispetto all'altro a una distanza tale da permettere al *quencher* di spegnere l'emissione di fluorescenza del *reporter*. Durante la fase di allungamento della PCR la polimerasi procede sul filamento denaturato aggiungendo

nucleotidi sulla base del DNA stampo e a un certo punto incontra la sonda legata alla regione a essa complementare; la polimerasi procede sul filamento scalzando la sonda e degradandola mediante la sua attività nucleasica. Il processo di degradazione che avviene solo in seguito a un ciclo di amplificazione dello specifico DNA, comporta l'allontanamento dei due fluorofori e conseguentemente la emissione di fluorescenza da parte del *reporter*. L'aumento del livello di emissione di fluorescenza all'interno della miscela di reazione sarà proporzionale all'aumento di specifici ampliconi prodotti e verrà rilevato dal sistema ottico accoppiato al termociclatore.

*DNA "microarray"*: tecnica che rappresenta una forma di ibridazione in cui centinaia di sonde contenenti informazioni geniche diverse vengono fissate, tramite apparecchi sofisticati, su un supporto solido (silice o vetro). L'estratto di acido nucleico da sottoporre ad analisi viene fatto ibridare con questa particolare multisonda e le posizioni in cui avviene la reazione vengono individuate mediante l'uso di software *ad hoc* in grado di rilevare il segnale fluorescente prodotto. La tecnica permette di individuare la presenza di geni diversi nel DNA in studio, ma il costo per il suo utilizzo, specialmente nel settore delle malattie delle piante, è molto elevato e la sperimentazione al riguardo solo iniziale.

## Bibliografia

- BERTACCINI A. (2002) - *Malattie da fitoplasmi: stato dell'arte*. *Petria*, 12 (3): 325-343.
- BERTACCINI A., CALZOLARI A. (1983) - *Agenti di vire-scenza e giallumi*. *Inf. fitopat.*, 33: 9-20.
- BERTACCINI A., DAVIS R.E., LEE I.-M., CONTI M., DALLY E.L., DOUGLAS S.M. (1990) - *Detection of Chrysanthemum yellows mycoplasma-like organism (MLO) by dot-hybridization and Southern blot analysis*. *Plant Disease*, 74: 40-43.
- BERTACCINI A., VIBIO M., STEFANI E. (1995) - *Detection and molecular characterization of phytoplasmas infecting grapevine in Liguria (Italy)*. *Phytopath. mediterr.*, 34: 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*. *Inf. agrario*, 20: 55-59.
- BERTACCINI A., BORGO M., MARTINI M., MORI N., MURARI E., POSENATO G., SANCASSANI P., SARTORI S., VIBIO M. (1998) - *Continuano le epidemie di giallumi*. *Inf. agrario*, 15: 85-90.
- BERTACCINI A., VALLILLO E., MURARI E., MARTINI M. (1999) - *Presenza di Legno nero in Molise*. *Inf. agrario*, 2: 62-63.
- BERTACCINI A., BOTTI S., MARTINI M., COLLA R., MAZZALI G., MAZIO P., POZZA M., MEGLIORALDI S., VINGIONE M. (2001) - *La flavescenza dorata in Emilia: caratterizzazione molecolare del ceppo in fase di diffusione*. *Inf. agrario*, 47: 97-100.
- BERTACCINI A.F., JUNG H.Y., BOTTI S., NAMBA S. (2002) - *Organization of the ribosomal RNA genes of hydrangea phyllody phytoplasma*. In: Proc. 14<sup>th</sup> IOM Congress [Vienna, July 7-12], IOM Letters, vol. 8, pp. 100-135.
- BOTTI S., BERTACCINI A. (2000) - *Variability and functional roles of some chromosomal sequences in phytoplasmas of 16SrI-B subgroup*. In: Proc. IOM Congress, ACROS [Fukuoka (Japan), July 14-19]: p. 100.
- BOTTI S., BERTACCINI A. (2003) - *Variability and functional role of chromosomal sequences in 16SrI-B subgroup phytoplasmas including Aster yellows and related strains*. *J. Appl. Microbiol.*, 94: 103-110.
- D'ASCENZO D., BOTTI S., PALTRINIERI S., DI GIOVANNI R., DI SILVESTRO D., BERTACCINI A. (2003) - *Identificazione di phytoplasmas associated with Grapevine yellows in Abruzzo region (Italy)*. In: Proc. 14<sup>th</sup> Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICVG) [Locorotondo (BA-Italy), September 12-17, 2003], pp. 89-90.
- CLARK M.F., BARBARA D.J., DAVIS D.L. (1983) - *Production and characteristics of antisera to Spiroplasma citri and clover phyllody-associated antigens derived from plants*. *Ann. Appl. Biol.*, 103: 251-259.
- CLARK M.F., MORTON A., BUSS S.L. (1989) - *Preparation of mycoplasma immunogens from plants and a comparison of polyclonal and monoclonal antibodies made against Primula yellows MLO-associated antigens*. *Ann. Appl. Biol.*, 114: 111-124.
- DAVIS R.E., DALLY E.L., BERTACCINI A., CREDI R., LEE I.-M., OSLER L., CARRARO L., BARBA M. (1992) - *Cloned DNA probes for specific detection of Italian periwinkle virescence mycoplasma-like organism (MLO) and investigation of genetic relatedness*. *Phytopath. mediterr.*, 31: 5-12.

- DAVIS R.E., JOMANTIENE R., ZHAO J., DALLY E.L. (2003) - *Folate biosynthesis pseudogenes, folP and folK, and an O-sialoglycoprotein endopeptidase gene homologue in the phytoplasma genome*. DNA and cell biology, 22: 697-706.
- FOS A., DANET J.L., ZREIK L., GARNIER M., 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 (11): 1092-1096.
- GUNDERSEN D.E., LEE I.-M., SCHAFF D.A., HARRISON N.A., CHANG C.J., DAVIS R.E., KINGSBURY D.T. (1996) - *Genomic diversity among phytoplasma strains in 16S rRNA Group I (Aster yellows and related phytoplasmas) and III (X-Disease and related phytoplasmas)*. Int. J. Syst. Bacteriol., 46: 64-75.
- GUO Y.H., CHENG Z.-M., WALLA J.A. (1998) - *Amplification and Rflp analyses of 23S ribosomal DNA from phytoplasmas*. Phytopathology, 88: S35.
- IRPCM PHYTOPLASMA/SPIROPLASMA WORKING TEAM - PHYTOPLASMA TAXONOMY GROUP (2004) - *Description of the genus 'Candidatus Phytoplasma', a taxon for the wall-less non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects*. Int. J. Syst. Evol. Microbiology, 54: 1243-1255.
- KAKIZAWA S., OSHIMA K., NISHIGAWA H., JUNG H.Y., WEI W., SUZUKI S., TANAKA M., MIYATA S., HUGAKI M., NAMBA S. (2004) - *Secretion of immunodominant membrane protein from Onion yellows phytoplasma through the Sec protein-translocation system in Escherichia coli*. Microbiology, 150: 135-142.
- KIRKPATRICK B.C., STENGER B.C., MORRIS T.J., PURCELL A.H. (1987) - *Cloning and detection of DNA from a nonculturable plant pathogenic mycoplasma-like organism*. Science, 238, 197-200.
- KIRKPATRICK B., SMART C., BLOMQUIST C., GUERRA L., HARRISON N., AHRENS U., LORENZ K., SEEMÜLLER E. (1994) - *Identification of MLO strain-specific PCR primers obtained from 16/23S rRNA spacer sequences*. IOM Letters, vol. 3, pp. 261-262.
- KUBOYAMA T., HUANG C.C., LU X., SAWAYANAGI T., KANAZAWA T., KAGAMI T., MATSUDA I., TSUCHIZAKI T., NAMBA S. (1998) - *A plasmid isolated from phytopathogenic Onion yellows phytoplasma and its heterogeneity in the pathogenic phytoplasma mutant*. The American Phytopathological Society, 11: 1031-1037.
- LEE I.-M., DAVIS R.E. (1988) - *Detection and investigation of genetic relatedness among Aster yellows and other mycoplasma-like organism by using cloned DNA and RNA probes*. Plant-Microbe Interactions, 1: 303-310.
- LEE I.-M., DAVIS R.E., HIRUKI C. (1991) - *Genetic interrelatedness among clover proliferation mycoplasma-like organisms (MLOs) and other MLOs investigated by nucleic acid hybridization and restriction fragment length polymorphism analyses*. Applied Environmental Microbiology, 57: 3565-3569.
- LEE I.-M., DAVIS R.E., CHEN T.-A., CHYKOWSKI L.N., FLETCHER J., HIRUKI C., SCHAFF D.A. (1992) - *A genotype-base system from identification, and classification of Mycoplasma-like organisms (MLOs) in the Aster yellows MLO straincluster*. Phytopathology, 82: 977-986.
- LEE I.-M., HAMMOND R.W., DAVIS R.E., GUNDERSEN D.E. (1993) - *Universal amplification and analysis of pathogen 16S rDNA for classification and identification of Mycoplasma-like organisms*. Phytopathology, 83: 834-842.
- LEE I.-M., GUNDERSEN 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*. Int. J. Syst. Bacteriol., 48: 1153-1169.
- LIEFTING L.W., KIRKPATRICK B.C. (2003) - *Cosmid cloning and sample sequencing of the genome of the uncultivable mollicute, Western-X disease phytoplasma, using DNA purified by pulsed-field gel electrophoresis*. FEMS Microbiol. Lett. 221: 203-211.
- LIN C.P., CHEN T.A. (1985) - *Monoclonal antibodies against the Aster yellows agent*. Science, 227: 1233-1235.
- MANILOFF J. (1992) - *Phylogeny of mycoplasmas*. In MANILOFF J., McELHANCY R., FINCH L., BASEMAN J. (eds.), *Mycoplasmas: molecular biology and pathogenesis*. American Society for Microbiology, Washington D.C., pp. 549-559.
- MARTINI M., MURARI E., MORI N., BERTACCINI A. (1999) - *Identification and epidemic distribution of two Flavescence dorée-related phytoplasmas in Veneto (Italy)*. Plant Diseases, 83: 925-930.
- MARTINI M., BOTTI S., MARCONI C., MARZACHÌ C., CASATI P., BIANCO P.A., BENEDETTI R., BERTACCINI A. (2002) - *Genetic variability among Flavescence dorée phytoplasmas from different origins in Italy and France*. Molecular and Cellular Probes, 16: 197-208.
- MARWITZ R. (1990) - *Diversity of Yellows disease agents in plant infections*. Zentralb. Bakteriell., Suppl., 20: 431-434.
- MCCOY R.E. (1979) - *Mycoplasma and Yellows diseases in Europe*. In MARAMOROSCH K., HARRIS K.F. (eds.), *Plant Diseases and Vectors. Ecology and Epidemiology*, Academic Press Inc., New York: 61-104.
- MIYATA S., OSHIMA K., KAKIZAWA S., NISHIGAWA H., JUNG H.Y., KUBOYAMA T., HUGAKI M., NAMBA S. (2003) - *Two different thymidylate kinase genes homologues, including one that as catalytic activity, are encoded in the Onion yellows phytoplasma genome*. Microbiology, 149: 2243-2250.
- MONTANO H., DAVIS R.E., DALLY E.L., HOGENHOUT S., PIMENTEL P., BRIOSE P.S.T. (2001) - *'Candidatus phytoplasma brasiliense', a new phytoplasma taxon associated with hibiscus witches'- broom disease*. Int. J. Syst. Evol. Microbiology, 51: 1109-1118.

- MUSETTI R., FAVALI A., PRESSACCO L. (2000) - *Histopathology and polyphenol content in plants infected by phytoplasmas*. Cytobios, 102: 133-147.
- NAMBA S., KATO S., IWANAMI S., OYAIZU H., SHIOZAWA H., TSUCHIZAKI T. (1993a) - *Detection and differentiation of plant-pathogenic mycoplasma-like organisms using Polymerase chain reaction*. Phytopathology, 83: 786-791.
- NAMBA S., OYAIZU H., KATO S., IWANAMI S., TSUCHIZAKI T. (1993b) - *Phylogenetic diversity of phytopathogenic mycoplasma-like organisms*. Int. J. Syst. Bacteriol., 43: 461-467.
- NISHIGAWA H., MIYATA S., OSHIMA K., SAWAYANAGI T., KOMOTO A., KUBOYAMA T., MATSUDA I., TSUCHIZAKI T., NAMBA S. (2001) - *In plant expression of a protein encoded by the extrachromosomal DNA of a phytoplasma and related to geminivirus replication proteins*. Microbiology, 147: 507-513.
- NISHIGAWA H., OSHIMA K., KAKIZAWA S., JUNG H., KUBOYAMA T., MIYATA S., UGAKI M., NAMBA S. (2002a) - *Evidence of intermolecular recombination between extrachromosomal DNAs in phytoplasma: a trigger for the biological diversity of phytoplasma?* Microbiology, 148: 1389-1396.
- NISHIGAWA H., OSHIMA K., KAKIZAWA S., JUNG H., KUBOYAMA T., MIYATA S., UGAKI M., NAMBA S. (2002b) - *A plasmid from a non-insect-transmissible line of a phytoplasma lacks two open reading frames that exist in the plasmid from the wild-type line*. Gene, 298: 195-201.
- OSHIMA K., KAKIZAWA S., NISHIGAWA H., KUBOYAMA T., MIYATA S., UGAKI M., NAMBA S. (2001) - *A plasmid of phytoplasma encodes a unique replication protein having both plasmid- and virus-like domains: clue to viral ancestry or result of virus/plasmid recombination?* Virology, 285: 270-277.
- OSHIMA K., KAKIZAWA S., NISHIGAWA H., JUNG H., 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: 27-29.
- PASQUINI G., ANGELINI E., BENEDETTI R., BERTACCINI A., BERTOTTO L., BIANCO P.A., FAGIOLI F., MARTINI M., MARZACHI C., BARBA M. (2001) - *Armonizzazione della diagnosi della Flavescenza dorata della vite (FD): risultati di una prova comparativa*. In: Atti Progetto POM A32 (vol. II), "Norme fitosanitarie e commercializzazione delle produzioni vivaistiche", [Locorotondo (BA-Italy), 4-7 dicembre 2001], pp. 921-940.
- PADOVAN A.C., GIBB K.S., BERTACCINI A., VIBIO M., BONFIGLIOLI R.E., MAGAREY P.A., SEARS B.B. (1995) - *Molecular detection of Australian grapevine yellows phytoplasma and comparison with Grapevine yellows phytoplasmas from Italy*. Austral. J. Grape and Wine Res., 1: 25-31.
- PRINCE J.P., DAVIS R.E., WOLF T.K., LEE I.-M., MOGEN B.D., DALLY E.L., BERTACCINI A., CREDI R., 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: 1130-1137.
- SCHNEIDER B., SEEMÜLLER E., SMART C.D., KIRKPATRICK B.C. (1995) - *Phylogenetic classification of plant pathogenic mycoplasma-like organisms or phytoplasmas*. In: RAZIN S., TULLY J.G. (eds.), *Molecular and diagnostic procedures in mycoplasmaology*. Academic Press, New York, vol. 2, pp. 369-380.
- SCHNEIDER B., GIBB K.S., SEEMÜLLER E. (1997) - *Sequence and RFLP analyses of the elongation factor Tu gene used in differentiation and classification of phytoplasmas*. Microbiology, 143: 3381-3389.
- SINHA R.C. (1979) - *Purification and serology of mycoplasma-like organisms antigens from Aster yellows-diseased plants by two serological procedures*. Phytopathology, 73: 1199-1202.
- SINHA R.C., BENHAMOU N. (1983) - *Detection of mycoplasma-like organisms antigens from Aster yellows-diseased plants by two serological procedures*. Phytopathology, 73: 1199-1202.
- STACKEBRANDT E., GOEBEL B.M. (1994) - *Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology*. Int. J. Syst. Bacteriology, 44: 846-849.
- WEISBURG W.G., TULLY J.G., ROSE D.L., PETZEL J.P., OYAIZU H., YANG D., MANDEICO L., SECHREST J., LAWRENCE T.G., VAN ETEN J., MANILOFF J., WOESE C.R. (1989) - *A phylogenetic analysis of the mycoplasmas: basis for their classification*. J. Bacteriol., 71: 6455-6467.

## 6. Cicaline dell'agroecosistema vigneto e loro interazioni con la vite nella trasmissione di fitoplasmi

Valerio Mazzoni, Alberto Alma, Andrea Lucchi

### 6.1 Premessa

Il termine “cicaline” designa la quasi totalità delle specie appartenenti ai Rincoti (Rhynchota = Hemiptera) del sottordine Auchenorrhinchi (Auchenorrhyncha = Cicadina). Questo raggruppamento, a sua volta suddiviso nei due infraordini dei Fulgoromorfi (Fulgoromorpha) e dei Cicadomorfi (Cicadomorpha), è costituito in Europa da 17 famiglie (*fig. 1*). È in corso, da parte di diversi Autori, una profonda revisione della sistematica del gruppo che, tuttavia, non viene considerata in questo contesto. Una soltanto delle famiglie riportate non raccoglie nei propri membri la denominazione di cicaline, quella dei Cicadidi, che comprende le cosiddette “cicale”, solitamente caratterizzate da maggiori dimensioni oltre che dal ben noto frinire, udibile nelle calde giornate estive. Tra le cicaline propriamente dette, la famiglia di gran lunga più diffusa è quella dei Cicadellidi, che può contare in tutto il mondo migliaia di specie, ripartite in diverse sottofamiglie. Tra queste ultime, deltocefaline e tiflocibine sono indubbiamente le più importanti annoverando nelle proprie fila alcuni fitofagi di colture agrarie, talvolta in grado di arrecare consistenti danni economici.

In generale si tratta di specie fitomize, vale a dire dotate di un caratteristico apparato boccale di tipo pungente-succhiante, e specializzazione trofica che può essere, a seconda dei casi, a carico del floema, dello xilema o del mesofillo fogliare. Ciò determina la tipologia di danno sulla pianta e, in alcune circostanze, può abilitare alcune specie a veicolare pericolosi agenti fitopatogeni quali virus, batteri, spiropasmi e fitoplasmi. Quest'ultima categoria, quella cioè dei vettori, oltre ai già citati Cicadellidi, comprende altri cicadomorfi, come alcuni Cercopidi, e diversi fulgoromorfi, per lo più

riconducibili a Cixiidi e a Delfacidi. Nel caso della vite, senza dubbio le cicaline vettrici più note sono il cicadellide deltocefalino *Scaphoidenus titanus* Ball, vettore del fitoplasma agente causale della flavescenza dorata (FD), e il cixiide *Hyalesthes obsoletus* Signoret, vettore dell'agente causale di un'altra importante malattia fitoplasmatica della vite, nota come *Bois noir* (BN) in Francia, *Vergilbungskrankheit* (VK) in Germania e Legno nero (LN) in Italia. Viceversa, nessun vettore è noto al momento nell'altra grande sottofamiglia, quella cioè delle tiflocibine, le cicaline più diffuse nei nostri ambienti, agrari e non, che peraltro possono rendersi responsabili di infestazioni più o meno gravi su vite, come *Empoasca vitis* (Goethe), *Zygina rhamni* Ferrari e, soprattutto, *Jacobiasca lybica* (Bergevin & Zanon).

Un passo essenziale per contrastare la diffusione di malattie fitoplasmatiche risiede nella possibilità di effettuare corrette pratiche di monitoraggio che consentano tempestivi interventi di contenimento. Appare pertanto evidente come un corretto riconoscimento delle specie sia un punto cardine che deve necessariamente precedere e sostenere l'intera strategia di difesa. Ciò vale tanto di più nel caso dei vettori, la cui presenza, se abbinata a quella dell'agente fitopatogeno da questi veicolato, è potenzialmente sufficiente a diffondere la malattia in maniera del tutto incontrollata. Per questo motivo non è possibile, nel caso dei vettori, fare riferimento a delle soglie di intervento, quanto piuttosto mantenere le popolazioni nocive, una volta accertatane la presenza, a livelli poco significativi e comunque sempre sotto stretta sorveglianza.

Nel caso delle cicaline, pur essendo la determinazione specifica non raggiungibile se non attraverso l'aiuto di tassonomi del settore, è pur sempre possibile, anche per i non esperti, effettuare un

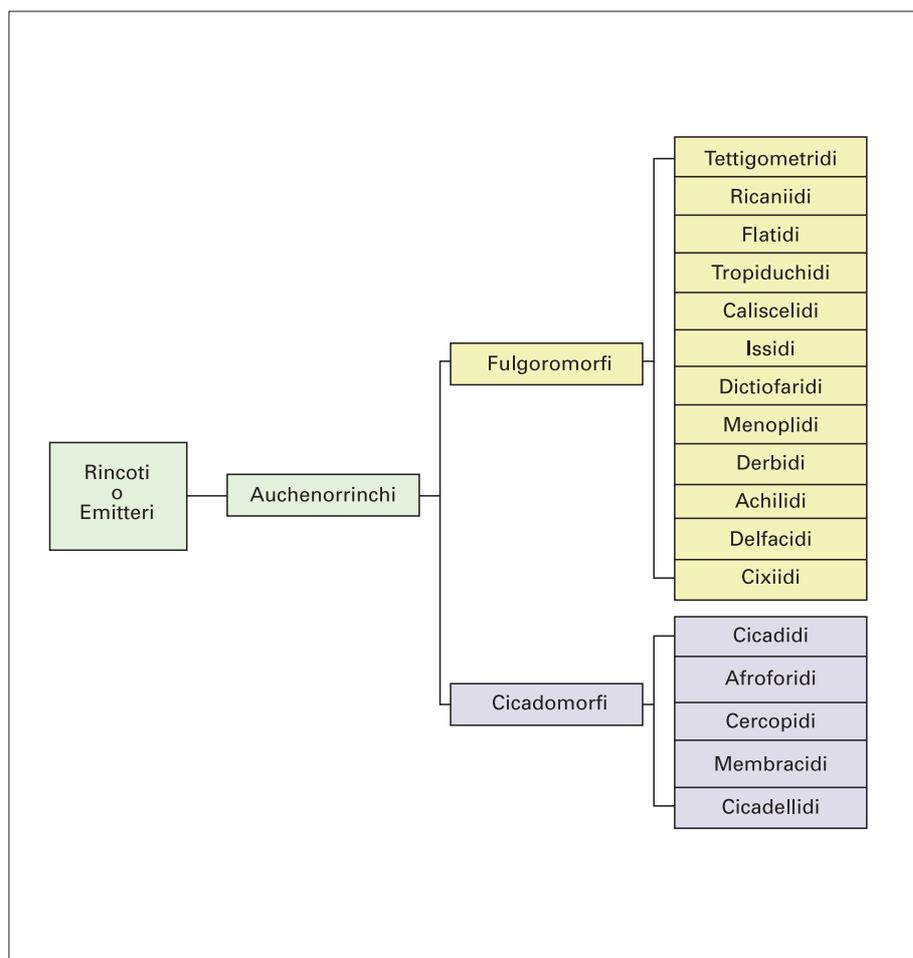


Fig. 1 - Famiglia dei Rincoti Auchenorrhynchi presenti in Europa

primo screening che consenta di stabilire a quale famiglia ed eventualmente sottofamiglia una data specie appartenga e, di conseguenza, se essa possa essere o meno riconosciuta come potenziale vettore di agenti fitopatogeni.

A tale scopo, qui di seguito, accompagnate da alcune tavole di carattere più generale volte a chiarire alcuni aspetti di terminologia, vengono descritte le principali componenti morfologiche e indicati criteri utili ad agevolare una prima diagnosi tassonomica al fine di consentire l'identificazione di esemplari adulti. Le cicaline annoverano specie le cui dimensioni oscillano, allo stato adulto, tra 1 e 20 mm, pur essendo l'intervallo di 2-5 mm il più comune; l'aspetto è piuttosto slanciato e affusolato pur non mancando, anche nei nostri ambienti, una discreta variabilità di forme ed esempi di notevole peculiarità morfologica. La livrea è pure estremamente variabile, anche all'interno delle singole specie, con un'ampia gamma di colori e di disegni, in particolare a carico del capo, del torace e delle ali anteriori.

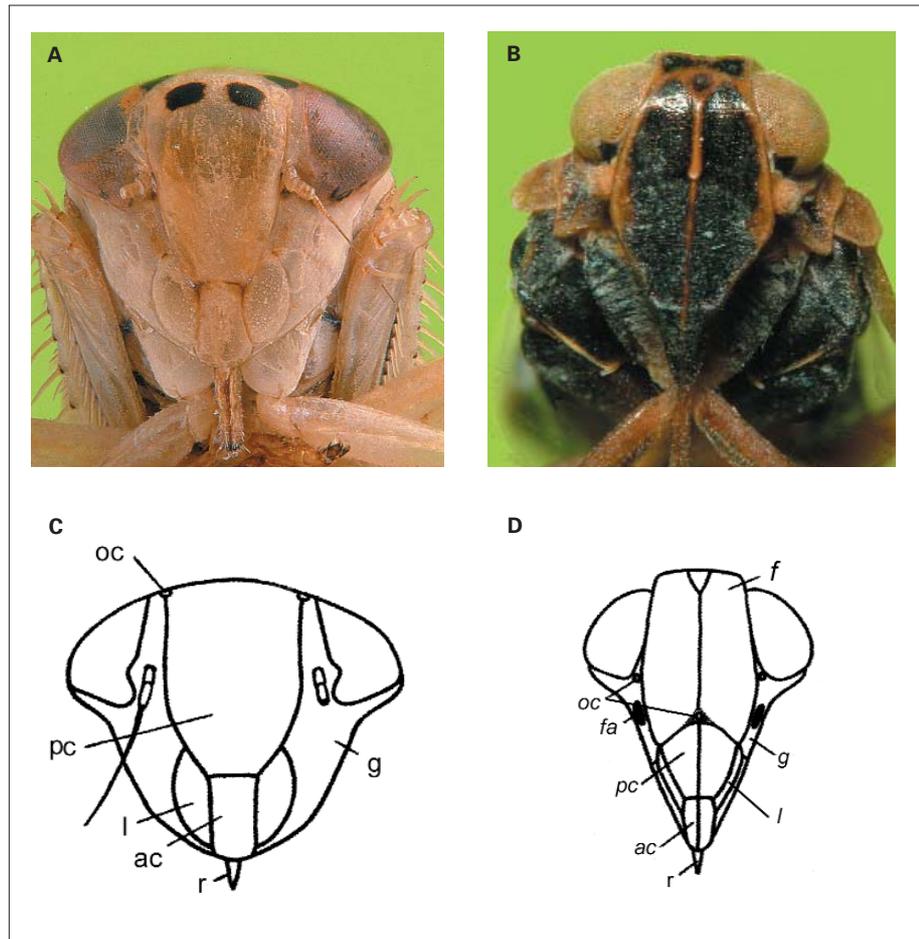
## 6.2 Note di morfologia e di sistematica

In generale, il corpo, come in tutti gli insetti, è suddiviso in tre regioni principali: capo, torace e addome.

Il *capo* è distinguibile in due regioni, visibili rispettivamente dal basso e dall'alto: la faccia (*Tav. I*) e il vertice (*Tav. II*). La faccia è distinta a sua volta in tre aree di riferimento, la fronte nella parte superiore, il postclipeo, nella parte mediana e l'anteclypeo in quella inferiore. Sui lati, delimitate da suture o carene, si trovano le *genae* o guance, le quali superiormente sono delimitate dal contorno degli occhi composti. Gli ocelli, se presenti, sono in numero di 2 o 3 e la loro dislocazione può rivestire importanza tassonomica in quanto piuttosto variabile all'interno dei raggruppamenti. Le antenne giacciono nell'area delle *genae* nei pressi del solco delle suture postclipeali. Sul confine tra postclipeo e anteclypeo sono presenti due elementi simmetrici solitamente di forma emisferica, le *lorae*.

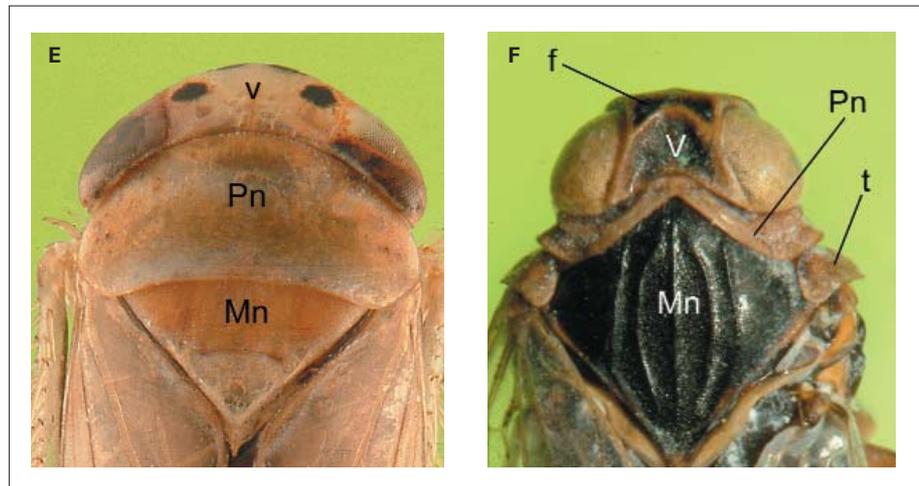
Tav. I - Struttura della faccia di un cicadomorfo (A e C) e di un fulgoromorfo (B e D).

ac = anteclypeo  
fa = fossa antennale  
g = genae  
l = lorae  
oc = ocelli  
pc = postclypeo  
r = rostro



Tav. II - Visione dorsale dell'avancorpo di un cicadomorfo (E) e di un fulgoromorfo (F).

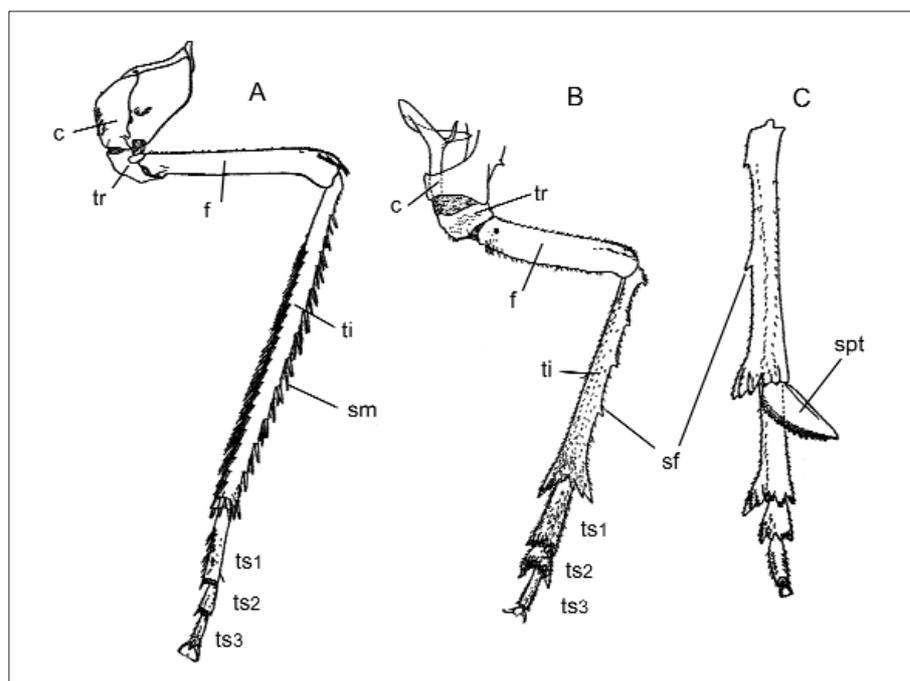
f = fronte  
Mn = mesonoto  
Pn = pronoto  
t = tegulae  
v = vertice



Infine, al di sotto dell'anteclypeo si trova il labbro inferiore o *rostro* che contiene, a riposo, 4 stilette boccali, due mandibolari e due mascellari. L'unione degli stilette mascellari dà luogo alla formazione di due canali, di cui uno (dorsale) per l'ingestione alimentare e l'altro (ventrale) per l'iniezione della saliva. Per quanto riguarda il vertice, esso ha il più

delle volte una forma emisferica o subtriangolare, sebbene non manchino eccezioni con diversi casi spettacolari di forte sviluppo in lunghe protuberanze, come nel caso dei Dictiofaridi.

Il *torace* (Tav. II) è suddiviso in 3 segmenti, protorace, mesotorace e metatorace. Esso ricopre



Tav. III - Zampe posteriori di un cicadomorfo (A) e di un fulgoromorfo (B).

In C, zampa posteriore di un delfacide.

c = coxa

f = femore

sf = spine fisse

sm = spine mobili

spt = sperone post-tibiale

ti = tibia

tr = trocantere

ts = tarsomeri.

(Figure ridisegnate da Emeljanov, 1988)

importanza tassonomica sia nella conformazione del dorso o noto che del ventre o sterno. Ciascun segmento porta un paio di zampe mentre un paio di ali è a carico del secondo e del terzo.

Il pronoto ha solitamente una forma semplice e rettangolare, sebbene in alcuni casi come nei Membracidi e nei Cicadellidi Ledrini, assuma delle conformazioni bizzarre, mentre il mesonoto, diviso a sua volta in varie sottoregioni, presenta nel complesso una forma triangolare con vertice rivolto all'indietro. Il metanoto è, infine, pressoché interamente coperto dalle ali e non assume una rilevante importanza tassonomica.

Le zampe (Tav. III) sono composte da un trocantere, dalla coxa o anca, dal femore, dalla tibia e da un tarso di tre articoli munito alla propria estremità di due unghie. Numerose spine e setole ricoprono solitamente le tibie e i tarsi, conferendo di conseguenza alla chetotassi, cioè alla particolare disposizione di tali strutture lungo l'organo, un importante valore tassonomico.

Le spine si definiscono fisse se sono tozze e prive di un punto di articolazione, viceversa si dicono mobili e vengono anche indicate col termine di *setae*. Le zampe posteriori sono notevolmente più sviluppate delle altre e hanno molte volte capacità saltatorie. La presenza su queste ultime di uno sperone mobile tra tibia e tarso caratterizza la famiglia dei Delfacidi.

Le ali sono sempre presenti e sviluppate, pur non essendo rari casi di brachitterismo o microtterismo. Quelle anteriori sono dette tegmine e possono avere consistenza più o meno coriacea; le posteriori sono sempre membranose. Nei fulgoromorfi l'estremità dell'ala anteriore, nei pressi del punto di attacco con il torace, è ricoperta da una piccola struttura sclerificata, la *tegula*. La disposizione e il numero di nervature sono estremamente variabili e costituiscono un importante carattere tassonomico, talvolta in grado di permettere la distinzione fino a livello di genere. Le ali anteriori sono suddivise da un'importante sutura diagonale in due aree ben visibili: il corio, in posizione anteriore e il clavo, in posizione posteriore. Le nervature longitudinali di riferimento dell'ala anteriore sono, sul corio, la costale, la radiale, la mediana e la cubitale e sul clavo le anali. Inoltre sono presenti una o più nervature trasversali che, incrociandosi con le longitudinali, danno luogo a un numero variabile di celle.

L'addome è costituito da 11 segmenti o uriti di cui i primi due solitamente contengono gli organi per la produzione di suoni e l'ottavo e il nono, per quanto riguarda la femmina, e il nono, nel caso del maschio, portano le armature genitali esterne. Il nono urite è comunemente denominato in entrambi i sessi pigoforo. La femmina è dotata di un ovopositore costituito da tre paia di valve, di cui due paia più interne, le gonapofisi, e un paio ester-

no, le gonoplasche, che fungono da fodero protettivo. Esistono svariate tipologie di ovopositore, strettamente legate alle diverse modalità di deposizione delle uova. Per quanto riguarda il copulatore maschile, esso è una sorta di pietra miliare nello studio della sistematica degli auchenorrhinchi e rappresenta l'elemento base a cui riferirsi per conseguire con successo l'identificazione specifica di un esemplare. Questo è costituito da un edeago o pene, solitamente sclerificato, e da una serie di organi annessi, caratteristici dei diversi raggruppamenti. La descrizione dettagliata di tali strutture non rientra negli obiettivi del presente lavoro e non verrà, pertanto, fornita in questa sede.

Gli Auchenorrhinchi si distinguono, rispetto a tutti gli altri Rincoti, per una serie di caratteri morfologici tra i quali citiamo il punto d'inserzione del rostro, la cui base sorge a livello del primo paio di zampe, la conformazione dei tarsi, sempre costituiti da 3 segmenti e la struttura delle antenne, caratterizzate da due segmenti basali sormontati da un flagello filiforme.

Per quanto riguarda i due infraordini menzionati vengono richiamati, di seguito, alcuni elementi di distinzione.

#### *Fulgoromorfi*

- 1a. Il postclipeo si trova nella parte basale della faccia ed è separato dalla fronte da una sutura trasversale. La fronte, che di sovente è attraversata da carene trasversali, occupa, pertanto, la parte mediana e superiore della faccia;
- 2a. il punto di inserzione delle zampe del secondo paio sullo sterno è chiaramente distanziato, col risultato che le basi delle *coxae* in visione ventrale risultano ben separate;
- 3a. la base dell'ala anteriore è provvista di *tegula*.

#### *Cicadomorfi*

- 1b. Il postclipeo ricopre la maggior parte della superficie facciale e non è separato da alcuna sutura trasversale dalla fronte che si colloca al di sopra delle antenne;
- 2b. il punto di inserzione delle zampe del secondo paio sullo sterno è assai ravvicinato col risultato che le basi delle *coxae* in visione ventrale sono pressoché a contatto tra loro;
- 3b. la base dell'ala anteriore è priva di *tegula*.

Più avanti, in appendice, verrà fornita una chiave dicotomica utile ad agevolare il riconoscimento delle famiglie (e nel caso dei cicadellidi delle sottofamiglie) più diffuse nell'area paleartica e, in particolare, nelle regioni italiane.

### 6.3 Biologia e danni

Le cicaline sono insetti a metamorfosi *eterometabolica*, la cui vita, dopo la schiusura dell'uovo, passa attraverso 5 stadi giovanili non molto dissimili dall'adulto. Solitamente, i primi due stadi sono detti di "*neanide*" e i restanti tre di "*ninfa*"; questi ultimi si distinguono dai primi per la presenza sul torace degli abbozzi alari.

Il ciclo biologico si svolge per lo più nella fase primaverile-estiva dell'anno, in cui avvengono, a seconda delle specie, una (*monovoltinismo*) o più (*polivoltinismo*) generazioni. Il monovoltinismo è generalmente più diffuso anche se non mancano casi di polivoltinismo che riguarda, tra gli altri, buona parte dei delfacidi e dei cicadellidi tiflocibini. Lo svernamento avviene prevalentemente allo stadio di uovo, sebbene non di rado capita che a svernare siano le forme giovanili o gli adulti, riparati in inverno su piante sempreverdi, in attesa di condizioni ambientali favorevoli.

Esistono svariate modalità di *deposizione delle uova*. Queste possono essere inserite dalle femmine nelle nervature fogliari, nei boccioli florali, negli steli o nella scorza lignificata di arbusti o alberi, oppure, come nel caso di buona parte dei cixiidi, in anfratti del terreno frammiste a fiocchi cerosi o ancora, come nel caso di certi issidi, all'interno di teche di terra plasmate dalla femmina stessa.

Pur essendo tendenzialmente igrofile, specialmente allo stato giovanile, le cicaline sono presenti in quasi tutti gli ecosistemi naturali; sono assai rare le piante che non risultino da queste frequentate, almeno occasionalmente. Le ragioni della straordinaria diffusione vanno ricercate nell'essersi adattate a numerose nicchie ecologiche. Cicaline sono presenti dalle regioni artiche fino all'equatore, in biotopi anche molto diversi tra loro. Inoltre, se per la stragrande maggioranza esse frequentano la parte epigea delle piante, siano esse imponenti latifoglie o monocotiledoni e dicotiledoni erbacee, ve ne sono alcune che vivono, allo stato giovanile, sugli apparati radicali, altre sotto la corteccia a spese di ife fungine, altre ancora che svolgono l'intero ciclo all'interno di grotte e caverne.

La polifagia è assai diffusa, consentendo a una singola specie di nutrirsi su un'ampia gamma di piante anche molto diverse tra loro, spesso in funzione della stagione e delle disponibilità trofiche. D'altro canto non mancano i casi di monofagia, con l'instaurarsi di una strettissima relazione bitrofica insetto-pianta.

Alla luce di ciò appare del tutto naturale che esistano specie il cui ciclo vitale sia fortemente legato

a colture agrarie a cui, talvolta, sono in grado di arrecare danni economici anche consistenti.

Esistono diverse cause di danno alle piante, dalle semplici ferite di ovideposizione di specie dotate di armature genitali particolarmente robuste – come nel caso della *Stictocephala bisonia* Kopp & Yonke, il cui l'ovopositore, perforando i tubi linfatici, determina il disseccamento delle parti vegetali coinvolte – alle produzioni abbondanti di cera e di melata che imbrattando foglie e frutti determinano problemi di natura estetica, come nel caso di *Metcalfa pruinosa* (Say). In realtà la prima e più diffusa causa di dannosità, come è ovvio aspettarsi, va ascritta all'attività di nutrizione a carico dei tessuti vegetali. Tale atto, unito alla tendenza di molte specie ad aggregarsi in affollate comunità, può indurre un rapido deperimento dei tessuti attaccati fino a provocare, in casi estremi, la morte della pianta. Prime responsabili del danno sono le forme giovanili, relativamente poco mobili, che, tendendo a stazionare nelle zone limitrofe al luogo di sgusciamiento, sono impegnate “a tempo pieno” nell'attività trofica. Gli adulti, al contrario, seppur ugualmente dannosi, in virtù delle ali sono portati a disperdersi maggiormente sul territorio, in buona parte impegnati nell'attività riproduttiva.

Notevole preoccupazione suscitano poi quelle cicaline che sono in grado di trasmettere, di pianta in pianta, agenti microbici fitopatogeni. A questo riguardo, i casi attualmente riportati in Italia sono alcune decine e riguardano, tra le altre, numerose piante di interesse agrario, sia monocotiledoni, quali frumento, orzo e mais, che dicotiledoni quali orticole, floricole e vite. Nel caso della vite i principali microrganismi veicolati da cicaline sono i fitoplasmi.

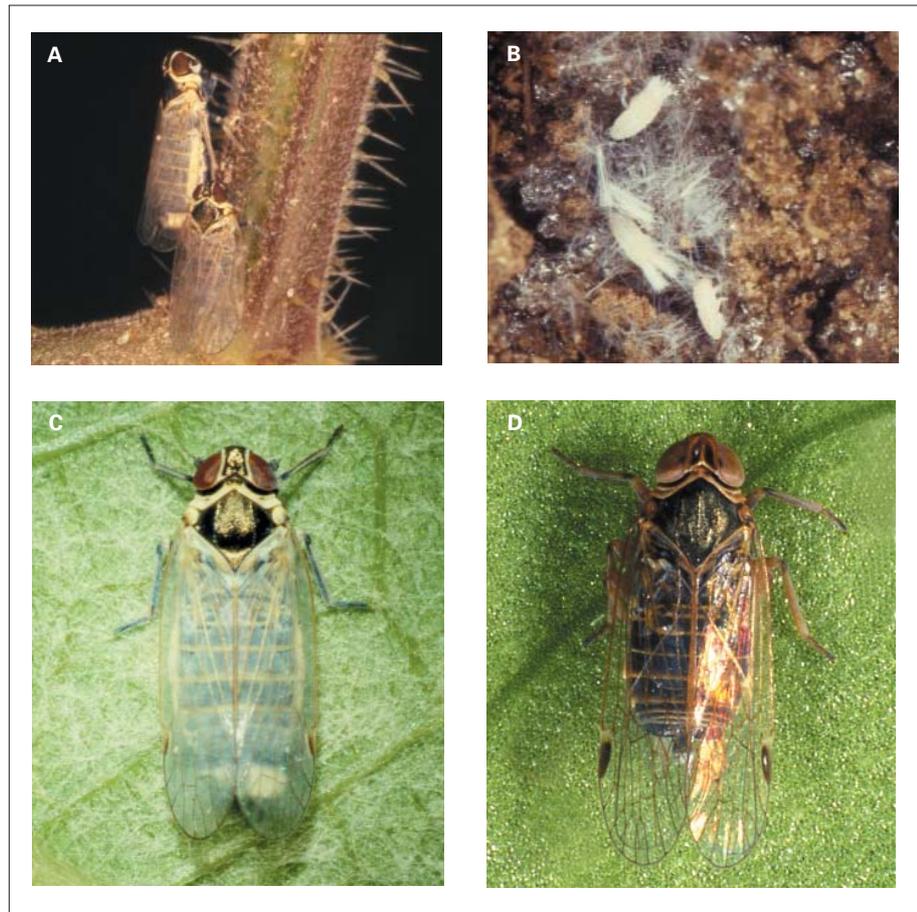
La capacità di trasmettere agenti fitopatogeni è strettamente legata alla specializzazione trofica, cosicché non tutte le cicaline sono in grado, anche solo potenzialmente, di fungere da vettori. Giova infatti ricordare che tra gli Auchenorrhinchi esistono essenzialmente tre tipologie di nutrizione, che può esplicarsi a carico delle cellule del mesofillo fogliare, dei tubi cribrosi o floematici e dei vasi legnosi o xilematici. Le specie che si nutrono pungendo singole cellule del tessuto fogliare si dicono mesofillomize. Buona parte dei tiflocibini rientra in questa categoria, e tra questi un esempio è la cicalina gialla della vite *Zygina rhamni*. Le alterazioni indotte da tali specie sono puntiformi e circoscritte a piccoli settori della foglia nei quali le cellule vengono svuotate dei loro contenuti. In questo caso occorrono popolazioni estremamente

consistenti per determinare un danno apprezzabile e comunque, cosa ancora più importante, non è a oggi dimostrata alcuna possibilità di trasmissione. La stessa cosa non avviene, invece, per xilemomizi e floemomizi, di gran lunga più pericolosi perché le punture sulle nervature a lungo andare ne determinano l'occlusione, con conseguente disseccamento e accartocciamento dei settori fogliari da queste sostenuti. Per questo motivo anche infestazioni di modesta entità possono produrre danni rilevanti (è questo il caso della cicalina nord-africana della vite, *Jacobiasca lybica*). Inoltre, questa tipologia di nutrizione rende possibile l'acquisizione e/o l'introduzione di agenti fitopatogeni dal/nel sistema vascolare delle piante. La maggioranza delle cicaline è floemomiza e attraverso il floema alcune di esse possono trasmettere agenti fitopatogeni tra cui principalmente virus e fitoplasmi. Gli xilemomizi sono meno diffusi, così come minori sono le entità patogene per questa via trasmissibili, riconducibili essenzialmente ai batteri xilematici. Un esempio lo troviamo rappresentato dall'afroforide *Philaenus spumarius* L., vettore negli Stati Uniti di *Xylella fastidiosa*, agente causale di una temibile malattia della vite nota come “malattia di Pierce”.

In conclusione è bene ricordare che:

- solo una bassa percentuale di specie di cicaline è in grado di fungere da vettore, siano esse floemomize o xilemomize, esistendo di fatto una predisposizione da parte di una cicalina a trasmettere un certo agente fitopatogeno. Ciò è determinato da complesse relazioni trofiche con la pianta ospite e biologiche fra insetto e microrganismo, venutesi via via a instaurare in un lungo processo coevolutivo;
- in Italia le principali malattie della vite, flavescenza dorata e legno nero, sono indotte da fitoplasmi, microrganismi che sono localizzati a livello floematico e sono trasmessi da due specie, rispettivamente *S. titanus* e *H. obsoletus*;
- esistono altre specie la cui capacità di veicolare agenti fitopatogeni alla vite è stata dimostrata in laboratorio e che perciò sono potenziali vettori in natura; inoltre non è da escludere a priori che alcune malattie possano essere diffuse in pieno campo anche da altre cicaline al momento non ancora incluse tra le specie vettrici.

Tav. IV - In A, B e C, rispettivamente coppia, forme giovanili e adulto di *Hyalesthes obsoletus*; in D, adulto di *Hyalesthes luteipes*



#### 6.4 Riconoscimento, biologia e diffusione dei vettori o potenziali vettori di agenti fitopatogeni su vite

##### 6.4.1 Vettori di fitoplasmi in Italia

#### FAMIGLIA CIXIIDAE

#### *Hyalesthes obsoletus* Signoret, 1865

(Tav. IV)

*Adulto*: questa cicalina, 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 5 carene, di cui le due inter-

medie 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* ♂: 3,8-4,0 mm / ♀: 5,0-5,1 mm

*Stadi giovanili*: le dimensioni delle forme giovanili variano da 0,5 a 3,4 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.

I cixiidi sono una famiglia complessa dal punto di vista sistematico, non sempre semplici da identificare. Il genere *Hyalesthes* comprende in Italia altre due specie, *H. luteipes* Fieber e *H. scotti* Ferrari, entrambe facilmente rinvenibili nelle nostre regioni e molto simili a *H. obsoletus* in quanto a morfologia esterna. Tuttavia, un carattere distintivo di *H. obsoletus* risiede

nel colore bianco avorio dei bordi del vertice, della fronte e del pronoto, che nel caso delle altre specie congeneri risulta bruno. Riguardo alla distinzione tra il genere *Hyalesthes* e il genere *Reptalus*, che comprende cixiidi frequentemente presenti nei vigneti, i caratteri anatomici di riferimento risiedono nella conformazione delle carene intermedie del mesonoto e della carena frontale. Nei *Reptalus*, infatti, a differenza degli *Hyalesthes*, le carene intermedie del mesonoto sono altrettanto lunghe ed evidenti rispetto alle altre carene, e la carena frontale si biforca nei pressi del punto di congiunzione col vertice.

*Note di corologia e di biologia* - Specie a distribuzione mediterranea con popolazioni segnalate anche in Portogallo, in Europa centrale fino alla Polonia e nell'Asia minore fino al Mar Caspio. In Italia la specie è diffusa su tutto il territorio. Le forme giovanili vivono nel terreno nutrendosi a spese dell'apparato radicale di piante erbacee come convolvolo e ortica, pianta a cui più di altre è infedato, almeno in Italia. In altre aree viticole europee la specie vive a spese di diverse altre dicotiledoni erbacee quali *Artemisia vulgaris*, *Cirsium arvensis*, *Lentodon autumnalis*, *Ranunculus bulbosus*, *Taraxacum officinale* e *Lavandula* spp. Gli adulti sono piuttosto polifagi, per lo più legati a varie piante erbacee tra cui diverse solanacee, mentre la presenza su vite è del tutto occasionale. La specie è monovoltina, con adulti presenti durante i mesi estivi e svernamento come forma giovanile (in genere di terza età) nel terreno, a circa 10-15 cm di profondità, protetta da candide e abbondanti secrezioni di cera.

*Fitoplasmici trasmessi alla vite*: agente causale di legno nero.

#### FAMIGLIA CICADELLIDAE

##### SOTTOFAM. DELTOCEPHALINAE

#### *Scaphoideus titanus* Ball, 1932 (Tav. V)

*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 anne-

rimenti 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.  
*Lunghezza* ♂: 4,8-5,2 mm / ♀: 5,5-6,0 mm

Di notevole rilievo, al fine di discriminare questa specie dalle altre deltocefaline 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.

*Stadi giovanili*: le neanidi sono di color bianco-giallognolo; a partire dalla terza età (I 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, di due macchie nere simmetriche subtriangolari-rottondeggianti. 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.

*Note di corologia e di biologia* - *S. titanus* è specie di origine nordamericana diffusa, nell'areale neartico, tra il 50° e il 30° parallelo, tra Canada e California. In Europa questa specie è stata rilevata per la prima volta nel Sud della Francia nel 1960. Attualmente il cicadellide è presente in Croazia, Francia (Corsica inclusa), Portogallo, Serbia, Spagna, Slovenia e Svizzera. In Italia la sua presenza è segnalata in tutto il Nord, oltre che in Toscana, in Umbria, in Campania e Basilicata. Nelle aree viticole del Centro-Sud la specie è presumibilmente giunta in forma di uova deposte nel materiale di propagazione. Nel suo areale d'origine *S. titanus* è specie polifaga, spesso reperita, oltre che su vite, anche su pesco, melo e molte altre specie arboree quali *Crataegus* spp., *Salix* spp., *Juniperus virginiana*, *Ulmus* spp. e *Fraxinus* spp. In Europa, invece, risulta strettamente monofago su vite, su cui compie una sola generazione nel periodo tardo primaverile-estivo. Lo svernamento avviene sotto forma di uovo deposto nei tessuti legnosi della vite, generalmente sui tralci di due anni. Le schiusure iniziano in maggio, e si pro-

**Tav. V - *Scaphoideus titanus*: A) un adulto B) due esemplari in accoppiamento C) un uovo D) una ninfa**



traggono scolarmente fino alla prima decade di luglio. I giovani sono particolarmente abbondanti in giugno, ma se ne possono reperire fino ad inizio agosto. La presenza degli adulti si ha nell'intervallo compreso tra la fine di giugno e la caduta delle foglie.

*Fitoplasmî trasmessi alla vite*: agente causale di FD e, solo in condizioni di laboratorio, di giallumi del gruppo *Aster yellows* (AY).

#### 6.4.2 Vettori di fitoplasmî all'estero

##### FAMIGLIA CICADELLIDAE - SOTTOFAM. MACROPSINAE *Oncopsis alni* (Schrank, 1801) (Tav. VI A)

Cicalina di medie dimensioni, piuttosto robusta. Colorazione alquanto variabile, con differenze tra i sessi. Vertice e noto nel maschio da grigio-nerastro a giallo-bruno, nella femmina giallo-bruno più spesso tendente al rossastro. La convessità del vertice, molto più corto sia del pronoto che del mesonoto, è particolarmente accentuata nel punto mediano. Presenti diverse macchie di pigmento scuro su pronoto e mesonoto; quest'ultimo ha due macchie rotonde mediane e due triangolari, più chiare, la cui base è appoggiata sul bordo posteriore

del pronoto, su cui, peraltro, sono facilmente distinguibili numerose striature trasversali. Anche la faccia che di solito presenta delle macchie scure, di forma discoidale, poste tra la fronte e il postclipeo, al di sotto degli ocelli; sovente una piccola macchia nera puntiforme si trova appoggiata all'ocello stesso. Ali anteriori con nervature scure (nerastre nel maschio, brune nella femmina) che si stagliano nettamente sullo sfondo, largamente trasparente (spesso di tono rossastro nelle femmine), eccetto che per alcuni tratti di bruno sparsi qua e là.

Lunghezza ♂: 5,0-5,6 mm / ♀: 5,3-6,1 mm

*Note di corologia e di biologia* - Questa specie, presente in tutta Italia, è monofaga sugli ontani (segnalata su *Alnus glutinosa* e *A. incana*). Predilige ambienti freschi e umidi, preferibilmente in prossimità di corsi d'acqua, laghi e paludi. L'attività trofica su vite è da considerarsi del tutto occasionale, legata essenzialmente alla presenza di ontani nelle immediate vicinanze del vigneto. Sverna come uovo ed è monovoltina.

*Fitoplasmî trasmessi alla vite*: in Germania, per la regione del Palatinato, è stata provata per questa specie la capacità di veicolare l'agente causale di un giallume noto come *Palatinate grapevine yellows*, molto vicino dal punto di vista genetico alla FD e al momento non ancora segnalato in Italia.

### 6.4.3 Vettori di fitoplasm in condizioni di laboratorio

#### FAMIGLIA CICADELLIDAE

#### SOTTOFAM. DELTOCEPHALINAE

#### ***Macrosteles quadripunctulatus*** (Kirschbaum, 1868) (Tav. VI B)

Cicalina di modeste dimensioni, con corpo snello e allungato. Colore dell'avancorpo giallo-verdognolo, col capo caratterizzato da quattro grandi tacche nere rotondeggianti, di cui due sul passaggio dalla fronte al vertice e due nella parte superiore del postclipeo, immediatamente sotto gli ocelli. Ulteriori tacche accessorie, sensibilmente più piccole delle altre, si trovano tra ocello e occhio. Bordo anteriore del vertice convesso, al più ottusamente angolato. Sul mesonoto sono presenti due macchie nere triangolari. Ali semi-trasparenti, coperte da una soffusa tinta grigiastra con sfumature giallo-verdognole, dotate di due sole celle subapicali. Addome nero nei maschi, più chiaro nelle femmine. Zampe munite di bande longitudinali e macchie nere in corrispondenza dei punti di inserzione delle spine mobili.

*Lunghezza* ♂: 2,9-3,1 mm / ♀: 3,2-3,5 mm

*Note di corologia e di biologia* - Specie presente in tutta Italia salvo che in Sardegna; è stata segnalata su monocotiledoni erbacei dei generi *Setaria* e *Panicum* e su *Corispermum*, dicotiledone della famiglia Chenopodiacee. Si ritrova facilmente in ambienti moderatamente caldi e asciutti, con terreni sabbiosi e vegetazione sparsa. Non di rado può essere rinvenuta nei vigneti, sebbene la presenza su vite come adulto debba ritenersi del tutto occasionale. Sverna come uovo e svolge 2-3 generazioni l'anno.

*Fitoplasm trasmessi alla vite*: agenti causali del giallume del gruppo *Aster yellows* (AY), solo in condizioni di laboratorio.

#### ***Euscelis incisus*** (Kirschbaum, 1858)

(Tav. VI C)

Le dimensioni e il colore di questa specie sono soggetti ad ampia variabilità, determinata nel corso dell'anno da fattori ambientali tra i quali, in primo luogo, il fotoperiodo. La generazione primaverile ha una taglia minore e una più accentuata pigmentazione rispetto a quelle esti-

ve. In generale, il colore di fondo è bruno-giallognolo con una diffusa picchiettatura scura sulle ali anteriori e la presenza di linee nere longitudinali sulle tibie, nonché di macchie e anulature brune sui femori. Testa e pronoto in estate sono privi di tinte scure che al contrario si manifestano in primavera, in particolare sul postclipeo, attraversato da una serie di linee trasversali. Il vertice presenta un paio di macchie nerastre presso il margine anteriore e altre più piccole in posizione più retrostante; ulteriori macchie sono diffuse anche a livello di pronoto e mesonoto.

*Lunghezza* forme primaverili ♂: 3,0-3,6 mm / ♀: 3,8-4,1 mm; forme estive ♂: 3,7-4,4 mm / ♀: 3,9-4,4 mm

*Note di corologia e di biologia* - Specie presente in tutta Italia, polivoltina, in grado di completare 2-3 generazioni l'anno a partire dalla primavera per poi svernare come ninfa e/o adulto, a seconda delle latitudini. Cicalina notevolmente polifaga, legata a leguminose, soprattutto del genere *Trifolium*, e a monocotiledoni varie. È facilmente rinvenibile in tutti i prati, inclusi quelli di ambienti piuttosto aridi e oligotrofici. La sua presenza nei vigneti inerbiti è alquanto ricorrente e occasionalmente è possibile raccogliere adulti sulla vite stessa.

*Fitoplasm trasmessi alla vite*: agenti causali di giallumi del gruppo AY, in condizioni di laboratorio.

#### ***Euscelidius variegatus*** (Kirschbaum, 1865)

(Tav. VI D)

Cicalina di medie dimensioni, con vertice prominente, anteriormente arrotondato, largo quanto il pronoto, ma più corto. Colorazione di fondo marrone chiara con presenza diffusa di macchiettature scure, alquanto variabili nei diversi esemplari, per numero e dimensioni. Solitamente il postclipeo presenta in alto, tra la faccia e il vertice, due tacche nere discoidali irregolari visibili parzialmente anche dall'alto. Sul vertice, subito dietro agli ocelli, sono presenti due macchie nere trasversali, con due ulteriori piccole tacche nere comprese tra ocello e occhio. Peculiare la distribuzione delle macchie anche sul resto del corpo, in particolare sul pronoto, dove si possono osservare delle vere e proprie bande scure longitudinali, sulle zampe e sulle ali, a esclusione delle nervature che pertanto appaiono distintamente chiare.

*Lunghezza* ♂: 3,3-4,9 mm / ♀: 4,0-5,2 mm

Tav. VI - A) *Oncopsis alni* (Schrank); B) *Macrosteles quadripunctulatus* (Kirschbaum); C) *Euscelis incisus* (Kirschbaum); D) *Euscelidius variegatus* (Kirschbaum)



*Note di corologia e di biologia* - Specie a larga diffusione, presente in tutta Italia. Facilmente rinvenibile in prati polifiti, specialmente in ambienti caldi e asciutti; può facilmente essere ritrovata in luoghi incolti, giardini e interfilari inerbiti di vigneti e frutteti. Talvolta, esemplari adulti possono essere raccolti direttamente su foglie di vite, sebbene tale evento debba ritenersi del tutto occasionale. La specie è polifaga, legata alle dicotiledoni erbacee ed è polivoltina, compiendo tre generazioni l'anno. Lo svernamento avviene come adulto.

*Fitoplasmî trasmessi alla vite*: giallumi del gruppo AY, solo in condizioni di laboratorio. Questa specie viene abitualmente impiegata per mantenere, in condizioni di laboratorio, il fito plasma FD in piante erbacee (*Vicia faba*).

#### 6.4.4 Cicaline comunemente diffuse nei vigneti e potenzialmente vettrici di agenti fitopatogeni

##### FAMIGLIA CIXIIDAE

***Reptalus quinquecostatus* (Dufour, 1833)**  
(Tav. VII A)

Specie di dimensioni piuttosto ragguardevoli, con aspetto molto simile a quello di *H. obsoletus*. Da quest'ultimo può essere distinto, oltre che per le maggiori dimensioni, per il fatto che le cinque carene del mesonoto sono tutte marcatamente visibili e complete in lunghezza, mentre la sutura mediana frontale si biforca nei pressi del punto di contatto col vertice, formando con esso un piccolo triangolo.

*Lunghezza* ♂-♀: 5,0-6,5 mm

*Note di corologia e di biologia* - Questa specie trascorre la sua fase giovanile nel terreno su piante ospiti al momento non note. L'adulto appare estremamente polifago, rinvenibile con facilità in Italia centrale, a partire da luglio fino a tutto settembre, su una svariata gamma di erbe, arbusti e alberi. Tra le specie coltivate vanno annoverate in particolare erba medica, *Prunus* spp. e vite su cui talvolta può risultare particolarmente abbondante. La specie è monovoltina e ha in Italia un'ampia diffusione, risultando assente soltanto in Sicilia e Sardegna.

#### FAMIGLIA DICTYOPHARIDAE

##### ***Dictyophara europaea* (L., 1767)**

(*Tav. VII B*)

Cicalina assai diffusa e facilmente identificabile per la caratteristica ipertelia del capo. Il vertice, infatti, presenta una lunga protuberanza anteriore lunga all'incirca quanto mesonoto e pronoto messi assieme. Il colore verde o rosa è esteso a tutte le parti del corpo; le ali anteriori, seppur trasparenti, presentano nervature che si stagliano nettamente sullo sfondo. Tre carene ben evidenti corrono lungo pronoto e mesonoto. In generale la specie si presenta piuttosto robusta e di forma vagamente triangolare.

*Lunghezza* ♂-♀: 9,0-13 mm

*Note di corologia e di biologia* - *D. europaea* è presente in tutta Italia, particolarmente in ambienti soleggati e asciutti con vegetazione sparsa. Probabilmente si tratta di una specie polifaga, infeudata a dicotiledoni erbacee, pur non disdegnando occasionalmente di visitare arbusti e alberi, compresa la vite. È monovoltina e sverna come uovo deposto nel terreno.

#### FAMIGLIA FLATIDAE

##### ***Metcalfa pruinosa* (Say, 1830)**

(*Tav. VII C*)

È un insetto abbastanza appariscente, con ali anteriori grigio brunastre, di forma trapezoidale tenute, a riposo, a ricoprire interamente l'addome che invece è chiaro con riflessi verdognoli. Il colore è, comunque, fortemente influenzato dalle abbondanti secrezioni cerose che rivestono, talvolta in modo eterogeneo, tutto il corpo che, pertanto, appare farinoso allo sguardo. L'aspetto è piuttosto robusto, il vertice è breve e la fronte spaziosa. Le ali anteriori sono

provviste di un elevato numero di nervature, in special modo nella porzione medio-distale. Le zampe sono chiare. Per quanto concerne le forme giovanili, le neanidi subito dopo lo sguisciamento sono bianche e hanno aspetto appiattito caratterizzato da un'estremità addominale tronca da cui emergono evidenti ciuffi di cera candida. In breve esse tendono a ricoprirsi interamente di bianche secrezioni cerose, mentre con il progredire delle età il corpo diviene verdognolo.

*Lunghezza* ♂-♀: 7-9 mm

*Note di corologia e di biologia* - Specie di origine americana introdotta in Italia soltanto di recente (prima segnalazione in Veneto nel 1980). Da allora la sua diffusione nella penisola è stata assai veloce e ha portato, nel breve arco di due decenni, all'occupazione di tutto il territorio nazionale. La sua rapida espansione è principalmente da attribuirsi al sorprendente grado di adattamento ai diversi tipi di habitat e all'ampissima polifagia, che riguarda centinaia di specie di erbe, arbusti e alberi, tra cui molti fruttiferi. *M. pruinosa* è specie monovoltina che sverna come uovo deposto preferibilmente sulle superfici corticali, nelle screpolature del legno o, laddove presenti, nelle creste tuberose della corteccia. Dopo la schiusura delle uova, che avviene scalarmente a partire dalla prima settimana di maggio, le giovani neanidi tendono via via ad aggregarsi in affollate comunità, privilegiando come luoghi di stazionamento, soprattutto nelle prime età giovanili, le parti più riparate e umide della pianta. Altro connotato peculiare di questa cicalina è l'abbondante produzione di melata, che se da un lato, soprattutto in seguito alla comparsa di fumaggini, determina un fastidioso imbrattamento delle superfici vegetali, dall'altro può essere sfruttata favorevolmente ai fini della produzione mielistica. La presenza degli adulti si ha a partire dalla seconda metà di giugno fino al termine della stagione estiva.

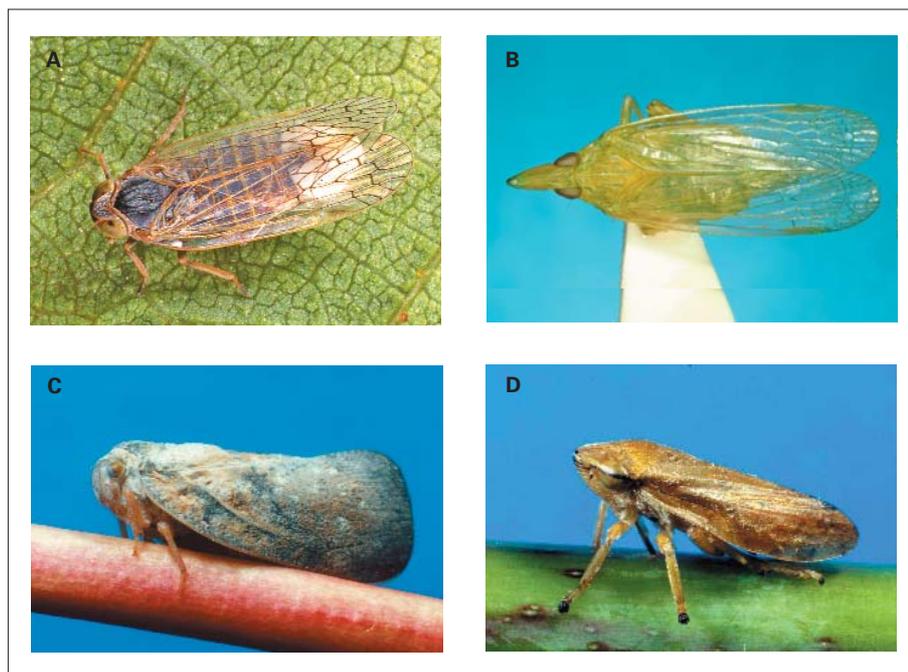
#### FAMIGLIA APHROPHORIDAE

##### ***Philaenus spumarius* (L., 1758)**

(*Tav. VII D*)

Specie caratterizzata da un'ampia variabilità cromatica che va dal bruno, quasi nero, al marrone nocciola chiaro tendente al giallognolo. È usuale la presenza sul corpo di striature o macchie di varia forma e colore che conferiscono ai

Tav. VII - A) *Reptalus quinquecostatus*  
 B) *Dictyophara europaea*  
 C) *Metcalfa pruinosa*  
 D) *Philaenus spumarius*



singoli esemplari caratteristiche peculiari e che nel tempo hanno portato alla descrizione di numerose forme cromatiche. *P. spumarius* è specie robusta, di dimensioni medio-grandi, caratterizzata da un postclipeo bombato, chiaramente convesso in visione laterale, e attraversato da striature nere trasversali, soprattutto nella sua parte superiore, dove confluiscono. Il vertice è leggermente prominente, più stretto che largo, caratterizzato dalla presenza di un'area semicircolare poco dietro al margine anteriore. Il primo paio di ali è coriaceo e ricoperto da una fine villosità. Le zampe sono chiare, così come il ventre, fatta eccezione per gli sterniti toracici nero lucenti.

Lunghezza ♂: 5,3-6,0 mm / ♀: 5,4-6,9 mm

*Note di corologia e di biologia* - Specie ubiquitaria, presente sia nell'area neartica che in quella paleartica, estremamente polifaga, in grado di vivere su erbe, arbusti e alberi. Diffusa tanto in ambienti caratterizzati da flora spontanea, quanto in aree coltivate, essa è rinvenibile in moltissimi biotopi diversi. È univoltina e sverna come uovo, per poi svolgere il proprio ciclo vitale nel periodo primaverile-estivo. Gli adulti, molto longevi, sono attivi fino ad autunno inoltrato. Le forme giovanili, principalmente legate alle piante erbacee, sono assai numerose a partire da aprile-maggio. Esse emettono abbondanti secreti liquidi misti ad aria con cui rivestono il proprio corpo per proteggersi dall'ar-

sura. Per questo fenomeno la specie viene comunemente inclusa tra le cosiddette "sputacchine". La sua presenza nei vigneti e sulla vite allo stato adulto è ricorrente sebbene, data l'ampia polifagia che ne favorisce la dispersione su numerose essenze vegetali, non raggiunge mai densità preoccupanti.

*Fitopatie potenzialmente trasmissibili alla vite:* questa specie in Nord America è vettore dell'agente causale della malattia di Pierce, pericolosa batteriosi che attacca i tessuti legnosi della vite e di numerose altre piante, spontanee e coltivate.

#### FAMIGLIA CICADELLIDAE

##### SOTTOFAM. CICADELLINAE

#### *Cicadella viridis* (L., 1758)

(Tav. VIII A)

Specie di grandi dimensioni, di aspetto slanciato con vertice rotondeggiante e postclipeo fortemente bombato. Colore delle zampe e del corpo giallo più o meno intenso, a eccezione delle ali e della metà posteriore del pronoto che si presentano di un vivace verde-azzurro. Due macchie nere irregolarmente rotondegianti sono sempre presenti sul vertice, a contatto col bordo anteriore del pronoto. Due linee longitudinali brune attraversano il postclipeo.

Lunghezza ♂: 5,0-7,0 mm / ♀: 7,0-9,0 mm

*Note di corologia e di biologia* - Questa specie è presente su tutto il territorio italiano. Polifaga, risulta molto comune nei prati umidi a prevalenza di monocotiledoni, spesso infeudata a piante del genere *Juncus*. Data la discreta mole dell'insetto, l'ovideposizione, riportata anche a carico di varie piante fruttifere, può arrecare danni in particolare a semenzali e barbatelle. La presenza su vite è da ritenersi occasionale. In Italia *C. viridis* svolge due generazioni, risultando particolarmente abbondante nei prati tra settembre e ottobre. L'inverno è trascorso allo stato di uovo.

*Fitopatie potenzialmente trasmissibili alla vite*: questa specie, al pari di *P. spumarius*, è nota come vettore dell'agente causale della malattia di Pierce in Nord America.

#### FAMIGLIA CICADELLIDAE

##### SOTTOFAM. DELTOCEPHALINAE

#### *Anoplotettix* spp.

*A. fuscovenosus* (Ferrari, 1882) (Tab. VIII B)

*A. putoni* Ribaut, 1952

Cicadellidi dalle fattezze e dal cromatismo all'apparenza simili a quelle di *S. titanus*, con tinte giallastre dai forti toni bruno-grigio-aranciati. La rassomiglianza riguarda soprattutto il pronoto e le ali anteriori. *Anoplotettix* spp. presentano alcune bande bianche trasversali su fondo aranciato; le ali sono semitrasparenti, di colore bruno-arancio e variamente screziate di bianco, soprattutto lungo il margine costale, e di bruno, specie per quanto riguarda le nervature e le celle apicali, queste ultime nettamente infumate nella loro porzione distale. Le differenze sono però notevoli per quanto riguarda il margine anteriore del vertice, arrotondato anziché angolato, e caratterizzato dalla presenza di 4 grandi macchie nere rotondeggianti, di cui due all'altezza del margine anteriore degli occhi e altre due a livello del passaggio alla fronte. Le due specie congeneri sono distinguibili esclusivamente previo esame dell'apparato genitale maschile.

*Lunghezza* ♂: 5,6-6,1 mm / ♀: 6,0-6,5 mm

*Note di corologia e di biologia* - Le conoscenze sulla biologia riguardano essenzialmente *A. fuscovenosus*, specie presente nell'Italia centro-settentrionale e in Sardegna; al contrario, poco è noto

su *A. putoni*, specie segnalata in Italia centro-meridionale, isole comprese. *A. fuscovenosus*, svolge un ciclo monovoltino nel periodo primaverile-estivo. La schiusura delle uova, deposte in substrati legnosi di varie piante, compresa la vite, ha luogo tra marzo e aprile; in seguito le forme giovanili si trasferiscono su diverse piante erbacee, sia monocotiledoni che dicotiledoni, dove restano fino al raggiungimento dello stato immaginale. Al contrario gli adulti, pur essendo anch'essi polifagi, prediligono arbusti e alberi, tra cui molte specie coltivate, quali vari *Prunus* e la vite.

La presenza di questa specie sulla vite, in particolare con femmine nel periodo dell'ovideposizione, sembrerebbe favorita in contesti di viticoltura marginale o in zone confinanti con boschi o incolti. Gli sfarfallamenti avvengono tra maggio e giugno con adulti rinvenibili fino a tutto luglio. Diversa parrebbe la biologia di *A. putoni*, i cui adulti possono essere catturati fino a tutto settembre, suggerendo la possibilità che questa specie possa svolgere due generazioni.

#### *Placotettix taeniatifrons* (Kirschbaum, 1868)

(Tab. VIII C)

Anche questo cicadellide si caratterizza per un cromatismo che per certi versi ricorda *S. titanus*, con colore generale bruno-arancio e le nervature delle ali anteriori scure nella parte distale; non sono, viceversa, presenti screziature o macchie sparse, eccezion fatta per l'estremità posteriore delle celle apicali, che appare distintamente imbrunita. Le principali discriminanti morfologiche per poter distinguere questa specie da tutte le altre, quantomeno nei nostri ambienti, risiedono nelle caratteristiche del capo. Il vertice è arrotondato con due tacche nere puntiformi dietro a ciascun ocello; una spessa banda nera è presente nella parte superiore della faccia, tra i due ocelli, mentre una macchia nerastra si trova in corrispondenza delle fosse antennali e della parte inferiore delle *lorae*. Addome e torace sono per lo più bruni, salvo i settori sternali immediatamente anteriori agli uriti genitali, che sono più chiari. Le zampe presentano dei lievi imbrunimenti a livello dei tarsi e nel punto di inserzione delle *setae*.

*Lunghezza* ♂: 5,3-5,7 mm / ♀: 5,6-6,1 mm

*Note di corologia e di biologia* - Questa specie è tipica della flora mediterranea e infeudata a essenze quali corbezzolo e vari tipi di quercia. La

Tav. VIII - A) *Cicadella viridis*; B) *Anoplotettix fuscovenosus*; C) *Placotettix taeniatifrons*; D) *Psammotettix alienus*



specie è monovoltina, con presenza degli adulti in tarda primavera. Questa specie può risultare piuttosto ricorrente nei vigneti confinanti con fasce di macchia mediterranea.

***Psammotettix* spp.**

***P. alienus* (Dahlbom, 1850) (Tav. VIII D)**

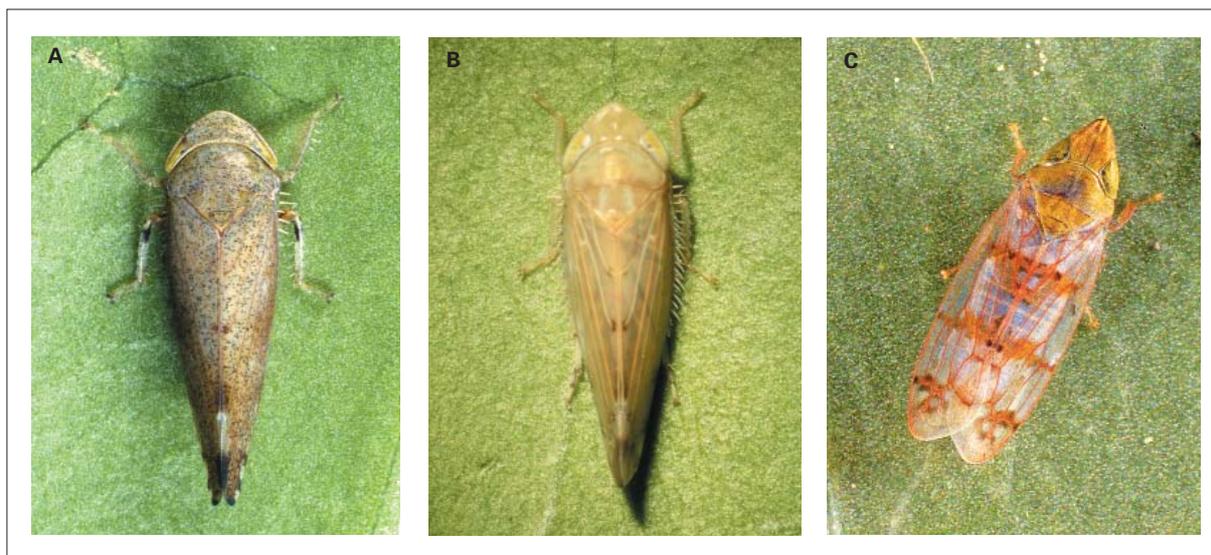
***P. confinis* (Dahlbom, 1850)**

***P. striatus* (L., 1758)**

Al genere *Psammotettix* appartengono diverse specie tra loro indistinguibili se non con il ricorso all'esame dei genitali maschili. Si tratta di cicaline di dimensioni modeste, piuttosto snelle con vertice prominente a margine anteriore angolato. Il colore di fondo è il marrone- nocciola, con numerose tacche brune sparse, in particolare sul vertice, presso il cui margine

anteriore spesso si trovano delle sottili linee brune, sui tarsi che talvolta risultano interamente anneriti, e sulle ali anteriori, su cui delle aree brune possono bordeggiare alcune nervature, o parti di esse. Il pronoto è sormontato da 4-6 linee longitudinali chiare, tra loro parallele. L'addome è sensibilmente più scuro rispetto al resto del corpo. Lunghezza ♂-♀: 3,2-4,3 mm

*Note di corologia e di biologia* - Queste tre specie sono largamente diffuse in tutta Italia. Possono vivere su numerose piante erbacee, in particolare graminacee. Molti sono i biotopi da queste interessati, sia in ambienti asciutti-semiaridi, che fresco-umidi. Sono tutte polivoltine, svernano come uovo e compiono 3-4 generazioni per anno. Probabilmente si tratta delle cicaline più diffuse nei prati e negli interfilari inerbiti dei vigneti italiani. Gli adulti compaiono a par-



Tav. IX - A) *Fieberiella florii*; B) *Synophropsis lauri*; C) *Japananus hyalinus*

tire da aprile-maggio e restano attivi fino a che le temperature lo consentono. Talvolta possono essere raccolti direttamente su foglie di vite, sebbene l'ampelofagia sia da ritenersi del tutto occasionale.

#### ***Fieberiella florii* (Stål, 1864)**

(Tav. IX A)

Specie 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 ♂: 6,5-7,0 mm / ♀: 7,0-7,5 mm

*Note di corologia e di biologia* - *F. florii* è presente su tutto il territorio italiano, eccezion fatta per la Sardegna. È una specie alquanto polifaga, che si nutre su una vasta gamma di arbusti e alberi, compresi fruttiferi e vite. La presenza su vite, a ogni modo, è del tutto sporadica. Lo svernamento può avvenire indifferentemente allo stato di uovo, giovane o adulto.

#### ***Synophropsis lauri* (Horvát, 1897)**

(Tav. IX B)

Colore generale bruno-giallastro con corpo e faccia chiari dai riflessi verdognoli. Il vertice è assai prominente e distintamente triangolare; le ali anteriori sono semitrasparenti e si caratterizzano per i decisi imbrunimenti nei punti di contatto tra nervature e margine esterno e ancora, nel settore apicale, di contorno alle nervature che peraltro risultano sempre chiare. Inoltre, la metà distale delle celle apicali è sempre diffusamente infumata. Anche il torace presenta degli imbrunimenti, così come il pigoforo, il dorso dell'addome e il secondo segmento tarsale. La base di ciascuna *seta* delle tibie posteriori presenta una macchia puntiforme nera.

Il nono urosterno dei maschi è notevolmente sviluppato, assai più lungo e rigonfio che nelle altre specie, e presenta numerose setole sui bordi latero-basali.

*Lunghezza* ♂: 5,7-6,0 mm / ♀: 6,0-6,5 mm

*Note di corologia e di biologia* - Questa specie si caratterizza per un'estrema polifagia ed è segnalata su varie piante arbustive e arboree tipiche dell'ambiente mediterraneo. La presenza su vite è piuttosto ricorrente, talvolta anche come forma giovanile. Durante l'inverno le forme giovanili sono reperibili su latifoglie sempreverdi, mentre tra maggio e giugno si ha la comparsa dei primi adulti e di un gran numero di neanidi. In Italia questa specie non è segnalata per la Sardegna.

#### ***Japananus hyalinus* (Osborn, 1900)**

(*Tav. IX C*)

Specie che si caratterizza per un certo dimorfismo sessuale. Colorazione generale giallo-verdastra, con toni di bruno sparsi, in particolare sul vertice e sulle ali anteriori. Il vertice ha una forma assai peculiare, appiattita o leggermente concava, marcatamente prominente e col margine anteriore triangolare (caratteri, questi, più pronunciati nella femmina). Due macchie triangolari di un bruno poco intenso si trovano nella parte anteriore del vertice, interposte da uno spazio chiaro lungo la linea mediana. Le ali

anteriori sono trasparenti, eccezion fatta per delle irregolari bande brune trasversali (di solito in numero di tre) costituite da serie di macchie rotondeggianti, particolarmente evidenti nelle femmine. Queste ultime, oltre che per le maggiori dimensioni, si caratterizzano anche per le nervature rossastre e per avere la parte ventrale dell'addome chiara, a differenza dei maschi, nei quali le nervature sono giallognole e il ventre è scuro. Le zampe sono chiare, con tibie posteriori munite di una piccola tacca scura alla base di ciascuna seta.

*Lunghezza* ♂: 4,2-4,5 mm / ♀: 5,2-5,4 mm

*Note di corologia e di biologia* - L'origine geografica di questa cicalina è ancora oggetto di dibattito sebbene le teorie più accreditate la diano proveniente dall'Est asiatico via Nord America. La prima segnalazione in Europa risale al 1961 (Austria e Romania), mentre in Italia è stata rinvenuta solo nel 1984, in Piemonte. Attualmente è diffusa in tutto il Nord Italia e in parte del Centro. La specie è infeudata agli aceri ornamentali e selvatici e può essere facilmente rinvenuta in vigneti inseriti in contesti naturali dove è abbondante la presenza di *Acer campestre*. Lo svernamento avviene allo stato di uovo con schiusure che hanno luogo a partire da giugno e i voli degli adulti da luglio. La specie può essere monovoltina o bivoltina, con un eventuale secondo picco di sfarfallamenti tra settembre e ottobre.

## 6.5 Appendice

*Chiave dicotomica per il riconoscimento delle famiglie di cicaline più comunemente reperibili nell'agroecosistema vigneto*

### Fulgoromorpha:

- 1 Estremità inferiore della tibia posteriore provvista di uno sperone mobile (*Tav. III C*)  
*Delphacidae*
- Estremità inferiore della tibia posteriore priva di tale sperone (*Tav. III A-B*) 2
- 2 Ali anteriori membranose, mai coriacee. Secondo segmento tarsale della zampa posteriore a estremità tronca o concava, provvista di una serie di spine approssimativamente di uguale dimensione l'un l'altra 3
- Ali anteriori coriacee. Secondo segmento tarsale della zampa posteriore a estremità convessa, provvisto di sole due spine laterali principali 4
- 3 Vertice notevolmente allungato. Specie di colore verde o rosa di dimensioni piuttosto notevoli, pari ad almeno 9 mm *Dictyopharidae*
- Vertice non o soltanto appena allungato. Colore di fondo nero; dimensioni variabili *Cixiidae*
- 4 Ali anteriori molto inclinate, tettiformi e quasi verticali in posizione di riposo; corpo coperto da cere *Flatidae*
- Ali anteriori poco inclinate o comunque non tettiformi, ma dotate di una certa convessità. Corpo mai ricoperto da cere *Issidae*

### Cicadomorpha:

- 1 Pronoto provvisto di una protuberanza spiniforme, fortemente allungata all'indietro, fino a coprire parte dell'addome *Membracidae*
- Pronoto mai come sopra, semplice, sempre compreso tra vertice e mesonoto 2
- 2 Tibie posteriori provviste di almeno una spina fissa e di corone di spine all'estremità inferiore della tibia e dei primi due tarsomeri (*Tav. III B*) 3

- Tibie posteriori prive di spine fisse, fornite di una o più serie di *setae* (*Tav. III A*)  
4 (*Cicadellidae*)
- 3 Ali anteriori rosso-nere; vertice nero, chiaramente più stretto del pronoto *Cercopidae*
- Ali anteriori mai colorate di rosso, solitamente brune. Vertice raramente nero, tanto largo quanto il pronoto *Aphrophoridae*
- 4 Ali anteriori dotate di una sola nervatura trasversale e pertanto prive di celle subapicali. Specie esili, di dimensioni modeste inferiori ai 4 mm *sf. typhlocibinae*
- Ali anteriori dotate di ulteriori nervature trasversali cosicché l'ala è munita di almeno una cella anche in posizione subapicale. Specie solitamente più robuste 5
- 5 Suture laterali della faccia che raggiungono o appena oltrepassano le fosse antennali 6
- Suture laterali della faccia che oltrepassano nettamente le fosse antennali (*Tav. I A-C*) 7
- 6 Apice del vertice formante un angolo ottuso; margine anteriore del pronoto più avanti del margine anteriore degli occhi. Ali posteriori con 3 celle apicali *sf. macropsinae*
- Apice del vertice arrotondato; margine anteriore del pronoto mai più avanti del margine anteriore degli occhi. Ali posteriori con 4 celle apicali *sf. agallinae*
- 7 Distanza tra gli ocelli minore della distanza tra le antenne *sf. cicadellinae*
- Distanza tra gli ocelli uguale o maggiore della distanza tra le antenne 8
- 8 Presenza di una ben distinta carena tra occhi e ocelli *sf. aphrodinae*
- Area tra occhi e ocelli assolutamente priva di carene *sf. deltocephalinae*

## Bibliografia

- ALMA A. (1995) - *Ricerche bio-etologiche su Anoplotettix fuscovenosus (Ferrari) (Cicadellidae Deltocephalinae)*. Boll. Zool. agr. Bachic., 27 (1): 45-52.
- ALMA A., ARNÒ C., ARZONE A., VIDANO C. (1988) - *New biological reports on Auchenorrhyncha in vineyards*. In: Proc. 6<sup>th</sup> Auchenorrhyncha Meeting [Turin (Italy), 7-11 Sept. 1987], pp. 509-516.
- ALMA A., PALERMO S., BOCCARDO G., CONTI M. (2001) - *Transmission of Chrysanthemum yellows, a subgroup 16SrI-B phytoplasma, to grapevine by four leafhopper species*. J. Plant Pathol., 83 (3): 181-187.
- ALMA A., CONTI M. (2002) - *Flavescenza dorata e altre fitoplasmosi della vite: il punto sui vettori ed epidemiologia*. Inf. fitopat., 10: 31-35.
- ALMA A., SOLDI G., TEDESCHI R., MARZACCHÌ C. (2002) - *Ruolo di Hyalesthes obsoletus Signoret (Homoptera, Cixiidae) nella trasmissione del legno nero della vite in Italia*. Petria, 12 (3): 411-412.
- ALTABELLA N., LAVIÑA A., BATLLE L. (2002) - *Study of the transmission of stolbur phytoplasma by Macrosteles quadripunctulatus to different plant species*. 11<sup>th</sup> International Auchenorrhyncha Congress, [Potsdam (Germany), 5-9 August 2002], Abstracts of talks and posters, p. 70.
- ARNÒ C., ALMA A., ARZONE A. (1988) - *Biotaxonomy and ecology of Japananus (Rhynchota Auchenorrhyncha)*. In: Proc. 6<sup>th</sup> Auchenorrhyncha Meeting [Turin (Italy), 7-11 Sept. 1987], pp. 275-283.
- ARZONE A., ALMA A. (1997) - *Auchenorrhynchi vettori di agenti fitopatogeni in Italia (Rhynchota Homoptera)*. Ann. Accad. Agric. Torino, Facoltà di Agraria: 205-225.
- ARZONE A., ALMA A. (2000) - *Insetti vettori di fitoplasmi in Europa. Conoscenze, acquisizioni, aspettative*. Petria, 10 (2): 121-127.
- ARZONE A., VIDANO C., ALMA A. (1987) - *Auchenorrhyncha introduced into Europe from the nearctic region: taxonomic and phytopathological problems*. In: Proc. 2<sup>nd</sup> Int. Workshop on Leafhoppers and Plant-hoppers of Economic Importance, [Provo, (Utah-USA), 28<sup>th</sup> Jul.-1<sup>st</sup> Aug. 1986], pp. 3-17.
- BLOCKER D., TRIPLEHORN B.W. (1985) - *External morphology of leafhoppers*. In: NAULT L.R., RODRIGUEZ J.G. (eds.), *The leafhoppers and planthoppers*. Wiley, New York, pp. 41-60.
- BOURGOIN T. (1993) - *Female genitalia in Hemiptera Fulgoromorpha, Morphological and Phylogenetic data*. Ann. Soc. Entomol. Fr. (N.S.), 29 (3): 225-244.
- CONTI M., VIDANO C. (1988) - *Auchenorrhynchi e trasmissione di agenti fitopatogeni in Italia*. In: Atti Giornate Fitopatologiche 1988, vol. 3, pp. 27-50.
- DELLA GIUSTINA W. (1989) - *Homoptères Cicadellidae, 3. Faune de France, 73. Fédér. fr. Soc. Sci. nat. et INRA, Paris, 350 pp.*
- EMELJANOV A.F. (1988) - *Suborder Homoptera*. In: *Keys to the insects of the far east of the USSR, Vol. II. Homoptera and Heteroptera*. Nauka Publishing House, Leningrad, pp. 1-496.
- HOCH H., REMANE R. (1985) - *Evolution und Speziation der Zikaden-Gattung Hyalesthes Signoret, 1865 (Homoptera Auchenorrhyncha Fulgoroidea Cixiidae)*. Marburger Ent. Pub., 2 (2): 1-427.
- HOLZINGER W.E., KAMMERLANDER I., NICKEL H. (2003) - *The Auchenorrhyncha of Central Europe. Vol. I, Fulgoromorpha, Cicadomorpha excl. Cicadellidae*. Brill, Leiden, 673 pp.
- LE QUESNE W. (1960) - *Hemiptera (Fulgoromorpha)*. Handb. Ident. Br. Insects, vol. II (3): 1-68.
- LE QUESNE W. (1965) - *Hemiptera (Cicadomorpha) (excluding Deltocephalinae and Typhlocybinae)*. Handb. Ident. Br. Insects, vol. II (2a): 1-64.
- LE QUESNE W. (1969) - *Hemiptera (Cicadomorpha) Deltocephalinae*. Handb. Ident. Br. Insects, vol. II (2b): 65-148.
- MAIXNER M., REINERT W. (1999) - *Oncopsis alni (Schrank) (Auchenorrhyncha: Cicadellidae) as a vector of the Alder yellows phytoplasma of Alnus glutinosa (L.) Gaertn.* Europ. J. Plant Pathol., 105: 87-94.
- MAIXNER M., REINERT W., DARIMONT H. (2000) - *Transmission of Grapevine yellows by Oncopsis alni (Schrank) (Auchenorrhyncha, Macropsinae)*. Vitis, 39 (2): 83-84.
- MAZZONI V., COSCI F., LUCCHI A., SANTINI L. (2001) - *Leafhoppers and planthoppers vectors in Ligurian and Tuscan vineyards*. IOBC-WPRS Bulletin, 24 (7): 263-266.
- MAZZONI V., GIANNOTTI P. (2004) - *The taxonomic value of the ovipositor morphology in some European Empoascini (Homoptera, Cicadomorpha, Cicadellidae)*. In: Proc. 3<sup>rd</sup> European Hemiptera Congress, Abstracts, St. Petersburg, pp. 56-57.
- MORI N., MARTINI M., MALAGNINI V., FONTANA P., BRESSAN A., GIROLAMI V., BERTACCINI A. (1999) - *Vettori dei giallumi della vite: diffusione e strategie di lotta*. Inf. agrario, 55 (24): 53-56.
- NICKEL H. (2003) - *The Leafhoppers and Planthoppers of Germany (Hemiptera Auchenorrhyncha): patterns and strategies in highly diverse group of phytophagous insects*. Pensoft, Sofia-Moscow, 460 pp.
- NICOLI-ALDINI R. (2001) - *Cicaline della vite e del vigneto in Lombardia*. Regione Lombardia, Ed. Epitesto srl, Milano, 60 pp.
- O'BRIEN L.B., WILSON S.W. (1985) - *Planthopper systematics and external morphology*. In: NAULT L.R., RODRIGUEZ J.G. (eds.), *The leafhoppers and planthoppers*. Wiley, New York, pp. 61-102.
- OSSIANNILSSON F. (1978) - *The Auchenorrhyncha (Homoptera) of Fennoscandia and Denmark. Part I: Introduction, infraorder Fulgoromorpha*. Scandinavian Science Press, Copenhagen, pp. 1-222.

- OSSIANNILSSON F. (1981) - *The Auchenorrhyncha (Homoptera) of Fennoscandia and Denmark. Part 2: The families Cicadidae, Cercopidae, Membracidae and Cicadellidae (excl. Deltocephalinae)*. Scandinavian Science Press, Copenhagen, pp. 223-593.
- OSSIANNILSSON F. (1983) - *The Auchenorrhyncha (Homoptera) of Fennoscandia and Denmark. Part 3: The Family Cicadellidae: Deltocephalinae, Catalogue, Literature and Index*. Scandinavian Science Press, Copenhagen, pp. 594-979.
- POSENATO G., MORI N., BRESSAN A., GIROLAMI V., SANCASSANI G.P. (2001) - *Scaphoideus titanus, vettore della flavescenza dorata: conoscerlo per combatterlo*. Inf. agrario, 57 (15): 91-93.
- RIBAUT H. (1936) - *Homoptères Auchenorrhynques I. (Typhlocybidae)*. Faune de France 31, Paris, 231 pp.
- RIBAUT H. (1952) - *Homoptères Auchenorrhynques II. (Jassidae)*. Faune de France 57, Paris, 474 pp.
- SANTINI L., LUCCHI A. (1998) - *Presenza in Toscana del cicadellide Scaphoideus titanus Ball*. Inf. agrario, 49: 73-74.
- SFORZA R., BOUDON-PADIEU E. (1998) - *Le principal vecteur de la maladie du Bois noir*. Phytoma, 510: 33-37.
- VIDANO C. (1964) - *Scoperta in Italia dello Scaphoideus littoralis Ball, cicalina americana collegata alla "flavescenza dorée" della vite*. L'Italia agricola, 101 (10): 1031-1049.
- VIDANO C., ARZONE A., ALMA A., ARNÒ C. (1989) - *Flavescenza dorata della vite e Auchenorrhynchi probabili vettori del suo agente patogeno in Piemonte*. Ann. Fac. Sci. Agr. Univ. Torino, 15: 29-37.

## 7. Flavescenza dorata

### 7.1 Caratteristiche generali ed eziologia della flavescenza dorata

Piero Attilio Bianco, Nazia Loi,

Marta Martini, Paola Casati

La flavescenza dorata (FD) è una forma di giallume della vite, a forte carattere epidemico, causata da fitoplasmi e trasmessa in natura dalla cicalina *Scaphoideus titanus* Ball. FD e le altre forme di giallume, come il legno nero (LN), mostrano una sintomatologia del tutto simile tra loro, rendendo così impossibile riconoscerle solamente sulla base dei sintomi. Tuttavia alcune differenze sono riportate in letteratura: nel caso di LN, ad esempio, la diffusione della malattia in campo avviene in forma meno epidemica rispetto a FD e interessa, spesso, piante isolate nel vigneto.

I primi sintomi di FD si osservano, su alcune varietà, già nel mese di giugno, 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; in quelle a bacca rossa la colorazione, nelle fasi iniziali, è di intensità variabile, ma in autunno diventa di un rosso intenso. Va detto che alcune varietà come Cabernet Sauvignon e Moscato, mostrano un debole arrotolamento della lamina, talvolta appena accennato, anche nel mese di settembre.

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 inte-

ressare l'intera pianta e le viti possono andare incontro a decesso, fenomeno che si rileva specialmente alla ripresa vegetativa.

I sintomi di FD si manifestano generalmente l'anno successivo a quello dell'infezione; qualora le piante vengano inoculate precocemente oppure in regioni dal clima caldo, caratterizzate da una prolungata stagione vegetativa, essi compaiono nel corso dello stesso anno.

FD è stata per lungo tempo ritenuta una malattia a eziologia virale come, del resto, altre fitoplasmosi. A partire dal 1972, allorché Caudwell e colleghi dimostrarono che FD è una malattia causata da fitoplasmi, numerosi sono stati i tentativi per giungere all'isolamento e alla coltivazione *in vitro* dell'agente responsabile. È stato però l'impiego delle tecniche di biologia molecolare che ha permesso di dimostrare che FD e LN sono associate a fitoplasmi geneticamente differenti e che FD è associata a fitoplasmi appartenenti a due sottogruppi tassonomici indicati come 16SrV-C e 16SrV-D (Martini *et al.*, 1999), entrambi riuniti sotto il nome di *Candidatus* Phytoplasma vitis (IRPCM, 2004).

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 del gene ribosomico 16S.

Più recentemente, l'analisi molecolare dei geni *housekeeping rpl22-rps3*, ha permesso di caratterizzare in modo più dettagliato i fitoplasmi responsabili della flavescenza dorata. Sulla base degli studi condotti su questi geni, in viti affette da FD, sono stati individuati, finora, quattro differenti sottogruppi rpV (*ribosomal protein V*). Di questi, rpV-D, rpV-F e rpV-G, appartengono al sottogruppo 16SrV-C mentre rpV-E al sottogruppo 16SrV-D (Martini *et al.*, 1999).

Altri frammenti genici vengono ormai 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. L'analisi RFLP condotta su tale frammento ha permesso di identificare in vite, quattro sottogruppi: fd9-1, fd9-3 e fd9-4 (di cui fanno parte i fitoplasmi del sottogruppo 16SrV-C), e fd9-2, che si identifica con il sottogruppo 16SrV-D.

Sebbene in questi ultimi anni gli studi sull'eziologia di FD abbiano fornito preziose informazioni, molto resta ancora da indagare circa il ruolo dei diversi fitoplasmi riscontrati finora in vite.

Infine, fra gli aspetti di FD che suscitano notevole interesse vi è il fenomeno del risanamento delle piante malate che a livello internazionale viene riportato con il termine "recovery". Si tratta di un comportamento osservato in misura frequente sia in Francia che in Italia e riscontrato in misura differente in quasi tutte le varietà di *Vitis vinifera*.

## 7.2 Diagnosi

Piero Attilio Bianco, Nazia Loi,  
Marta Martini, Paola Casati

La corretta e tempestiva diagnosi di una malattia è di cruciale importanza per prevedere e prevenire l'insorgenza di epidemie; ciò è ancor più importante per quelle fitopatie per le quali non esistono validi strumenti di controllo diretto del patogeno responsabile. Questa osservazione è valida per tutte le fitoplasmosi, ma in particolare per FD, sia per la gravità dei danni che essa causa, sia per l'impossibilità di distinguerla (sulla base dei sintomi) da altre forme di giallume decisamente meno gravi, poiché meno epidemiche.

In passato, proprio la rapidità con la quale la malattia si è manifestata, è stato considerato un indizio della presenza di FD (Belli *et al.*, 1984). Saggi di trasmissione sperimentale di FD, da vite a vite, mediante *S. titanus* (Caudwell, 1971; Fortusini *et al.*, 1989; Carraro *et al.*, 1994; Bianco *et al.*, 2001; Mori *et al.*, 2002) hanno permesso di accertarne l'eziologia. La necrosi dell'apice vegetativo e gli ingiallimenti fogliari su viti Baco 22 A oppure Chardonnay indicavano la presenza di FD; come è noto infatti, LN e le altre forme di giallume non vengono trasmesse da questo insetto.

È superfluo mettere in evidenza la complessità dei saggi biologici, laboriosi e lenti, e spesso inaffi-

dabili: pertanto essi sono ormai ritenuti improponibili per una diagnosi tempestiva di FD.

Come detto, grazie ai progressi compiuti nell'ultimo decennio dalla diagnostica fitopatologica sono oggi disponibili metodologie efficaci e affidabili: si tratta di applicazioni della sierologia e della biologia molecolare, grazie alle quali, oggi, è possibile verificare, nell'arco di qualche ora, la presenza di fitoplasmi in vite e determinarne l'identità molecolare.

Va ricordato che per quanto riguarda l'Italia, tali informazioni sono 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 (D.M. del 31 maggio 2000, G.U. n. 159 del 10 luglio 2000).

### Metodi sierologici

L'applicazione di test sierologici in una diagnosi fitopatologica implica la disponibilità di antisieri specifici. Tali antisieri vengono definiti policlonali e si ottengono iniettando animali con antigeni purificati. Nel caso in cui non si riesca a purificare completamente l'antigene si può ricorrere alla più complessa procedura di produzione di anticorpi monoclonali (Mabs).

Nel caso del fitoplasma, agente causale della flavescenza dorata (FDa), sono stati prodotti dal 1982 sia anticorpi policlonali che monoclonali (Caudwell *et al.*, 1982; Boudon-Padieu *et al.*, 1989; Schwartz *et al.*, 1989; Seddas *et al.*, 1996).

Gli antisieri policlonali sono stati ottenuti immunizzando conigli con purificati parziali di FDa da insetti *Euscelidius variegatus* e da piante *Vicia faba* infetti. Tali antisieri, pur necessitando di essere adsorbiti con materiale sano per aumentare la loro specificità, hanno permesso di visualizzare il fitoplasma al microscopio elettronico (ISEM) e al microscopio ottico a fluorescenza in ghiandole salivari di insetti (Lherminier *et al.*, 1989). Anticorpi policlonali sono stati impiegati con successo anche in ELISA e DOT-BLOT per diagnosi di FDa in singoli *Scaphoideus titanus* raccolti in vigneti infetti e in materiale di fava infetto (Boudon-Padieu *et al.*, 1989).

Tali antisieri policlonali non dettero però risultati eclatanti per la diagnosi di FDa in vite. Successivamente le difficoltà vennero parzialmente superate con l'ottenimento dei primi anticorpi monoclonali (Schwartz *et al.*, 1989), con un miglioramento nella

tecnica di campionamento, con l'utilizzo di un particolare tampone di estrazione e con la concentrazione dell'estratto (Caudwell e Kuszala, 1992).

Seddas *et al.* (1993; 1995; 1996), utilizzando l'immunoaffinità per la purificazione di notevoli quantità di FDA integro, ottennero un pool di Mabs specifici che erano in grado di discriminare specificamente FDA da EYa (*Elm yellows*), che appartiene allo stesso raggruppamento tassonomico.

Attualmente la Sediag s.a.s. (Dijon, France) commercializza un kit DAS-ELISA e un kit per l'IMMUNOFLUORESCENZA per la diagnosi di FDA.

Il metodo DAS-ELISA prevede l'assorbimento in piastra di una miscela di anticorpi policlonali e monoclonali per la cattura di FDA, l'utilizzo di Mabs coniugati alla biotina, quindi di coniugati di streptavidin-fosfatasi e infine il complesso formato si viene messo in evidenza dall'aggiunta di substrato idoneo. L'estrazione di FDA da vite richiede uno specifico tampone pH 8,2 costituito da Tris HCl, detergente Chaps e acido ascorbico.

L'IMMUNOFLUORESCENZA prevede la disidratazione del campione, il trattamento dello stesso prima con Mabs specifici per FDA, quindi con anticorpi secondari coniugati con l'isotiocianato di fluoresceina e infine l'osservazione al microscopio a fluorescenza.

### Metodi molecolari

I metodi di diagnosi che si basano sull'utilizzo della tecnologia del DNA ricombinante si sono rivelati molto utili in quanto dotati di elevata sensibilità e specificità. Tali caratteristiche sono particolarmente appropriate nel caso della diagnosi dei fitoplasmi della vite, notoriamente poco concentrati all'interno dei tessuti della pianta ospite.

È altresì di vitale importanza la scelta del metodo di estrazione degli acidi nucleici dal quale spesso dipende il successo del saggio diagnostico stesso. A questo proposito, il gruppo nazionale di lavoro sui fitoplasmi della vite, nel settembre del 2001 ha condotto un saggio comparativo (*ring test*) presso l'Istituto per la Patologia vegetale di Roma (ora CRA) del Ministero per le Politiche Agricole e Forestali. Nel corso del *ring test* sono stati confrontati i risultati ottenuti utilizzando 3 protocolli differenti. Due dei tre protocolli che hanno dato risultati analoghi si sono confermati adatti alla diagnosi molecolare dei giallumi della vite. Il primo metodo è quello proposto da Ahrens e Seemüller (1992) e modificato da Barba *et al.* (1998) che prevede una fase iniziale di arricchimento dei fitoplasmi secondo Kirkpatrick *et al.* (1987), un'incubazione con CTAB *buffer* e succes-

sivamente un'estrazione con cloroformio/alcool isoamilico (24:1).

Il secondo protocollo, messo a punto da Prince e colleghi (1993), prevede diverse fasi di purificazione che portano, con un procedimento piuttosto lungo e complesso, all'ottenimento di DNA di alta qualità. Un terzo protocollo, estremamente rapido, semplice e di costo contenuto, ha fornito buoni risultati sotto il profilo della sensibilità (Pascuini *et al.*, 2001). Purtroppo, questi metodi prevedono l'utilizzo di reagenti chimici molto tossici come il fenolo e il cloroformio e, spesso, ciò rappresenta un serio ostacolo alla loro introduzione nella diagnostica fitopatologica su larga scala.

Negli ultimi anni, tuttavia si sta rapidamente diffondendo l'impiego di kit commerciali per l'estrazione di acidi nucleici da matrici vegetali. Questi prodotti, che recentemente vengono proposti anche a costi contenuti, vengono apprezzati per la rapidità e la semplicità di esecuzione nonché per l'assenza di sostanze tossiche.

Per quanto riguarda la preparazione del campione fogliare è necessario procedere all'isolamento delle nervature principali dalle foglie sintomatiche con lo scopo di aumentare la concentrazione del DNA del patogeno all'interno dell'estratto. I risultati migliori si ottengono effettuando l'estrazione del DNA a partire da foglie sintomatiche appena raccolte.

### Ibridazione molecolare

L'ibridazione molecolare si basa sull'utilizzo di sonde, ovvero di sequenze nucleotidiche marcate con fosforo radioattivo (sonde calde) oppure con biotina o digossigenina (sonde fredde). La reazione di riconoscimento (ibridazione) da parte della sonda di una sequenza omologa presente nell'estratto di DNA in saggio, indica la presenza di fitoplasmi nella vite dalla quale l'estratto è stato ottenuto.

Presso i laboratori di ricerca italiani ed esteri sono disponibili sonde specifiche per l'individuazione dei fitoplasmi della vite. Il loro impiego si è rivelato soddisfacente per l'individuazione di fitoplasmi in piante erbacee, ma sicuramente meno adatto per il rilevamento dei fitoplasmi che infettano le piante arboree e in particolare la vite.

I risultati più rilevanti per la diagnosi di FD mediante sonde molecolari sono stati ottenuti da Daire *et al.* (1992) utilizzando come sonda frammenti specifici (per il fitoplasma agente di FD) di DNA marcato radioattivamente. Queste sonde sono state usate in esperimenti di "dot blot" (ibridazione a macchia) su campioni di vite da campo, ma a causa del basso titolo dei fitoplasmi in questa pianta, è stato necessario effettuare laboriose operazioni di

arricchimento degli estratti prima di sottoporli a ibridazione. Inoltre, questa tecnica che può essere utilizzata per la diagnosi di altre forme di giallume della vite (Del Serrone *et al.*, 1995) è stata impiegata in combinazione con PCR ottenendo così apprezzabili livelli di sensibilità (vedi paragrafo successivo).

#### PCR (Polymerase Chain Reaction)

L'introduzione della tecnica PCR ha portato notevoli vantaggi per l'individuazione dei fitoplasmi in vite e in particolare di quelli responsabili di FD. Si tratta infatti di una tecnica estremamente efficiente, in grado di rilevare piccole quantità di DNA e di mettere in evidenza differenze nel genoma dei diversi fitoplasmi. La specificità nel rilevamento di tali differenze viene ulteriormente migliorata attraverso l'analisi del polimorfismo della lunghezza dei frammenti di restrizione nota come RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*).

La PCR è una tecnica che permette di amplificare un tratto di DNA compreso tra due "primers" (iniziatori di reazione) a sequenza nota, che si ibridano a un tratto specifico di DNA con sequenza a esso complementare. Il tratto di DNA compreso tra i due primers viene moltiplicato esponenzialmente nel corso della reazione grazie alla quale il DNA "bersaglio" viene ciclicamente sintetizzato ex novo dando origine così a un frammento genico identico a quello utilizzato come stampo. Tale reazione di sintesi o polimerizzazione del DNA è condotta da un enzima particolare, chiamato *Taq* DNA polimerasi (da *Thermus aquaticus*). La specificità di tale sintesi è assicurata dalla presenza, nella miscela di reazione, dei suddetti primers che indirizzano l'azione dell'enzima *Taq* polimerasi: ovviamente, nel caso dei fitoplasmi della vite ciò avviene solamente quando tali primers riconoscono una sequenza genica appartenente al fitoplasma corrispondente. In pratica questa tecnica è in grado di produrre un numero così alto di copie di DNA relativo al fitoplasma individuato che, anche nel caso in cui questo sia presente in bassa concentrazione, esso possa essere individuato.

I primers utilizzati per la diagnosi di FD possono essere distinti in primers universali e specifici. I primi sono in grado di amplificare un tratto di DNA di tutti i fitoplasmi, i secondi, invece, amplificano un tratto di DNA specifico dei fitoplasmi appartenenti al gruppo tassonomico per il quale i primers sono stati appositamente disegnati.

I primers utilizzati nella diagnosi di FD, citati in seguito, sono riportati in *tab. I*.

Attualmente l'identificazione dei fitoplasmi si basa soprattutto sulle informazioni relative alla sequenza del gene ribosomico 16S. Per quanto riguarda i fitoplasmi della vite è necessario proce-

dere 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 dell'operone 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.

Le coppie di primers specifici maggiormente usate sono: R16(V)F1/R16(V)R1 (Lee *et al.*, 1994) che amplifica una porzione del gene 16S rDNA e la coppia di primers fB1/rULWS1 (Smart *et al.*, 1996) che amplifica il gene 16S rDNA e parte della regione spaziatrice.

La nPCR può essere condotta anche con primers universali come R16F2/R16R2 (Lee *et al.*, 1995) – e ora anche con i primers R16F2n/R16R2 (Gundersen e Lee, 1996) – che amplificano una porzione del gene ribosomico 16S rDNA ma, in questo caso, si deve procedere ad analisi RFLP per identificare il gruppo tassonomico di cui fa parte il fitoplasma associato a FD, rappresentato dal gruppo del giallume dell'olmo. Quest'analisi RFLP viene normalmente condotta con l'enzima di restrizione *MseI* (Lee *et al.*, 1998) e i frammenti prodotti dalla digestione enzimatica vengono visualizzati attraverso una elettroforesi verticale con gel di poliacrilammide al 5%.

Sulla base del gene 16S rDNA è inoltre possibile distinguere FD dagli altri fitoplasmi che appartengono allo stesso gruppo tassonomico mediante analisi RFLP condotta con l'enzima *BfaI* (Lee *et al.*, 1998) sui prodotti di PCR ottenuti in nPCR con i primers gruppo specifici R16(V)F1/R16(V)R1 o universali R16F2/R16R2. Con la stessa tecnica è stata anche possibile una prima differenziazione dei ceppi di FD in due sottogruppi diversi indicati con 16SrV-C e 16SrV-D usando l'enzima *TaqI*, 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; Lee *et al.*, 2004).

Altri geni sono stati usati recentemente per la diagnosi e la differenziazione di ceppi di FD: i geni codificanti le proteine ribosomiche L22 ed S3 e il gene *SecY* che codifica la sintesi di una traslocasi di membrana. Per amplificare i geni codificanti per le proteine ribosomiche si possono usare due saggi di nPCR che usano entrambi la coppia di primers

**Tab. 1 - Elenco di primers e sonda con le relative sequenze, localizzazioni genomiche e citazioni bibliografiche utilizzati nella diagnosi di FD**

Primer	Sequenza 5'-3'	Localizzazione genomica	Bibliografia
P1*	aagagtttgatcctggctcaggatt	16S rDNA	Deng e Hiruki, 1991
P7*	cgctctcatcggtctt	23S rDNA	Schneider <i>et al.</i> , 1995
R16F2*	acgactgctaagactgg	16S rDNA	Lee <i>et al.</i> , 1995
R16F2n****	gaaacgactgctaagactgg	16S rDNA	Gundersen e Lee, 1996
R16R2*	tgacggcggtgtgtacaacccccg	16S rDNA	Lee <i>et al.</i> , 1995
R16(V)F1**	ttaaagaccttctcg	16S rDNA	Lee <i>et al.</i> , 1994
R16(V)R1**	ttcaatccgtactgagactacc	16S rDNA	Lee <i>et al.</i> , 1994
fB**	gaccttcaaaaggtcttag	16S rDNA	Smart <i>et al.</i> , 1996
rULWS1**	cgcttttataagagaaca	Regione spaziatrice	Smart <i>et al.</i> , 1996
rpVF1**	tcgcggtcatgcaaaaggcg	Operone proteine ribosomiche	Lee <i>et al.</i> , 1998
rpR1*	acgatatttagttcttttgg	Operone proteine ribosomiche	Lee <i>et al.</i> , 1998
rpVF2**	ttgcctggtttatccgagacta	Operone proteine ribosomiche	Lee <i>et al.</i> , 1998
rpVF1A**	aggcgataaaaaagttcaaaa	Operone proteine ribosomiche	Lee <i>et al.</i> , 2004
rpVR1A**	ggcattaacataatattatg	Operone proteine ribosomiche	Lee <i>et al.</i> , 2004
FD9f**	gaattagaactgttgaagacg	Non ribosomico	Daire <i>et al.</i> , 1997
FD9r**	ttgtctcatatctgtatcg	Non ribosomico	Daire <i>et al.</i> , 1997
FD9f2**	gctaaagtgattaac	Non ribosomico	Angelini <i>et al.</i> , 2001
FD9f3**	ggtagtttatatgacaag	Non ribosomico	Angelini <i>et al.</i> , 2001
FD9f3b**	taataaggtagtttatatgacaag	Non ribosomico	Angelini <i>et al.</i> , 2001
FD9r2**	gactagtcgcccaaaag	Non ribosomico	Angelini <i>et al.</i> , 2001
F1024***	gtgagatgtaggttaagtctctaaaacga	16S rDNA	Bianco <i>et al.</i> , 2004
R1112***	ttggcagctctcgctaaagtcc	16S rDNA	Bianco <i>et al.</i> , 2004
iProbe***	aaccctgtcgctagttgccagc	16S rDNA	Bianco <i>et al.</i> , 2004

Si distinguono: \* primers universali per i fitoplasmi  
 \*\* primers gruppo specifici (16SrV, gruppo del giallume dell'olmo)  
 \*\*\* primers e sonda TaqMan® per real-time PCR  
 \*\*\*\* primers universali dei quali si consiglia l'utilizzo.

rpVF1/rpR1 in PCR diretta, seguita in un caso dalla nPCR con i primers rpVF2/rpR1 (Lee *et al.*, 1998; Martini *et al.*, 2002) e nell'altro caso dalla nPCR con i primers rpVF1A/rpVR1A (Lee *et al.*, 2004).

Anche per l'amplificazione del gene *SecY* è stato messo a punto un saggio di nPCR che prevede l'utilizzo in PCR diretta della coppia di primers denominati FD9f2/FD9r seguita, in nPCR, dai primers FD9f3/FD9r2 (Daire *et al.*, 1997; Angelini *et al.*, 2001).

Entrambi i protocolli descritti utilizzano coppie di primers specifici per il gruppo del giallume dell'olmo, a cui appartengono i fitoplasmi responsabili di FD.

Sulla base delle informazioni ottenute attraverso l'analisi dei geni *rpl22-rps3*, all'interno del sottogruppo 16SrV-C sono stati individuati 3 diversi sottogruppi rpV: rpV-D, rpV-F, rpV-G; mentre il sottogruppo 16SrV-D corrisponde al sottogruppo rpV-E. Per quanto riguarda invece l'analisi svolta

sugli amplificati del frammento fd9 (che contiene il gene *SecY*), anche in questo caso è stato possibile distinguere i ceppi di FD appartenenti al sottogruppo 16SrV-C in più sottogruppi indicati con FD9-1, FD9-3, FD9-4, mentre il sottogruppo 16SrV-D è stato identificato con il sottogruppo FD9-2.

I primers relativi alla regione genica fd9 sono stati impiegati anche in esperimenti di PCR multipla (multiplex PCR) insieme a primers non ribosomici specifici per LN. Più precisamente le coppie di primers FD9f/FD9r e STOL11f2/STOL11r1 sono state usate in PCR diretta, a cui hanno fatto seguito le coppie di primers FD9f3b/FD9r2 e STOL11f3/STOL11r2 in nPCR (Clair *et al.*, 2003).

Come accennato nel paragrafo precedente, 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; Bianco *et al.*, 1996; Boarino *et al.*, 2001) oppure *primers* universali (Firrao *et al.*, 2000).

I protocolli diagnostici più diffusi ormai utilizzano le tecniche di PCR 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 come l'ELISA o l'ibridazione molecolare stessa. La PCR è in grado di rilevare la presenza di quantità di acido nucleico "bersaglio" pari a pochi femtogrammi ( $10^{-12}$  mg): sebbene livelli di sensibilità così elevati, nel caso della diagnosi dei fitoplasmi della vite, siano per ora difficilmente raggiungibili, la PCR è da considerare una tecnica molto affidabile benché ancora piuttosto costosa.

#### *Metodi diagnostici innovativi*

La ricerca in campo diagnostico, come evidenziato nei paragrafi precedenti, negli ultimi 10 anni, ha prodotto notevoli risultati. Fra le innovazioni più significative troviamo la "Real-time PCR". Essa si basa sull'utilizzazione di un sistema combinato di reazioni la prima delle quali è, appunto la PCR, seguita dall'ibridazione da parte di una sonda, di poche decine di basi, alla quale vengono legate molecole fluorogeniche, dette fluorofori (*tab. 1*). La funzione dei fluorofori è di segnalare il riconoscimento da parte della sonda, del frammento di DNA appartenente al fitoplasma per il quale sono state designate. Sebbene questa tecnica venga utilizzata da anni in altri settori della diagnostica, solo recentemente essa è stata utilizzata per la diagnosi delle fitoplasmosi della vite (Bianco *et al.*, 2002; Marzachi *et al.*, 2003). L'utilizzo di questa tecnica, una volta messa a punto per la diagnosi di FD, presenta numerosi vantaggi fra i quali la maggiore rapidità del saggio e la possibilità di rilevare con precisione il risultato ottenuto grazie a un apposito lettore spettrofotometrico, accoppiato al termociclatore, il quale rileva e misura, in tempo reale, la presenza del segnale fluorimetrico (Bianco *et al.*, 2004).

Inoltre, fra le tecnologie innovative degne di attenzione, troviamo la microibridazione su supporto solido (*DNA microarray*), utilizzata in via sperimentale per la diagnostica in campo umano e, di recente, utilizzata proprio per l'identificazione e la caratterizzazione dei fitoplasmi di FD (Frosini *et al.*, 2002; Bianco *et al.*, 2003).

Si tratta di una "nanotecnologia" molto promettente che per ora, viene utilizzata esclusivamente nei laboratori di ricerca. Al contrario di quanto accade nell'ibridazione su membrana (vedi paragrafo precedente), con questa tecnologia è la sonda

a essere immobilizzata su un supporto solido, di piccole dimensioni (vetro o microchip di silice). La deposizione delle sonde viene eseguita da appositi strumenti i quali, con estrema precisione e accuratezza, ne possono deporre un numero molto alto (parecchie centinaia) su superfici molto limitate (pochi centimetri quadrati). Il saggio consiste nel "confrontare" l'estratto di DNA di vite da saggiare con le sonde in precedenza depositate sul microchip; esse vengono scelte in modo che contengano tutte le informazioni atte a identificare i fitoplasmi riscontrati. Qualora una o più sonde riconoscano sequenze a esse omologhe, eventualmente presenti nei campioni di vite in saggio, un segnale emesso da molecole fluorogeniche preventivamente legate al DNA bersaglio, indica l'avvenuta reazione. Poiché le sonde vengono deposte sul supporto solido in base a uno schema prestabilito, il segnale indica anche la localizzazione della reazione stessa consentendo così di individuare quale sonda sia coinvolta nella reazione di ibridazione. Un apposito scanner è in grado di trasmettere questo segnale a un computer che, grazie a opportuni programmi di bioinformatica, giunge alla determinazione precisa del fitoplasma riscontrato (Bianco *et al.*, 2003).

I vantaggi che l'impiego di questa nanotecnologia potrebbe apportare alla diagnosi di FD e delle altre forme di giallume sono molteplici, il primo dei quali è legato alla possibilità di standardizzare il procedimento diagnostico. Un ulteriore vantaggio è rappresentato dalla rapidità con la quale il saggio *microarray* potrebbe fornire informazioni precise e dettagliate ottenibili solamente mediante il sequenziamento genico, una tecnica difficilmente utilizzabile per la diagnosi su larga scala.

È però doveroso riconoscere che l'ostacolo più forte all'impiego di queste tecnologie, con particolare riferimento a quella *microarray*, resta l'eccessivo costo delle attrezzature richieste e dei reagenti necessari per lo svolgimento dei saggi.

È pertanto auspicabile che vengano sostenute le ricerche volte a migliorare queste tecnologie con lo scopo di individuare materiali e protocolli affidabili e meno costosi.

La diagnostica di laboratorio, come qui presentato, ha compiuto notevoli progressi nel corso degli ultimi anni permettendo di individuare tempestivamente e riconoscere con precisione i fitoplasmi che infettano la vite.

È evidente altresì, che molto ancora resta da fare affinché queste metodologie vengano più ampiamente utilizzate nei laboratori di certificazione sanitaria, per l'adempimento delle norme di quarantena nonché per la verifica della sanità del materiale vivaistico.

### 7.3 Epidemiologia della flavescenza dorata della vite

Luigi Carraro

#### Diffusione della flavescenza dorata

L'areale di diffusione della flavescenza dorata della vite (FD) è confinato al continente europeo. La malattia venne segnalata e descritta per la prima volta in Francia (Caudwell, 1957), ove causò danni notevoli nelle aree viticole della Guascogna. Nel 1970 venne riportata per la Corsica (Bagard, 1987), ove pare sia stata introdotta nei primi anni sessanta in seguito a una importazione massiva di materiale per innesto e barbatelle di vite dal continente francese. In seguito venne riscontrata in tutte le aree viticole del Sud-Ovest 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), Serbia (Duduk *et al.*, 2004) e Italia.

In Italia, negli anni sessanta, fu segnalata una malattia del tutto simile a FD in alcuni vigneti dell'Oltrepò pavese (Belli *et al.*, 1973); nella stessa zona venne anche rilevata la presenza del vettore (Osler *et al.*, 1975). All'epoca non esistevano mezzi diagnostici per differenziare i diversi giallumi della vite; per accertare la presenza di FD era quindi necessario trasmettere il suo agente causale mediante il vettore *Scaphoideus titanus*, come stabilito durante il 10<sup>th</sup> Meeting of ICSV (*International Council for the Study of Viruses and Virus Diseases of the Grapevine*) tenutosi a Volos, in Grecia, nel 1990. La prova della presenza di FD in Italia può essere quindi fatta risalire al 1989, grazie alle ricerche fatte da Fortusini *et al.* In seguito, altri autori confermarono la presenza della fitoplasma nel Nord Italia, sia mediante trasmissioni sperimentali (Carraro *et al.*, 1994; Mori *et al.*, 2000; Bianco *et al.*, 2001), sia attraverso varie tecniche diagnostiche che nel frattempo erano state sviluppate. Grazie a queste ultime, il quadro attuale della presenza di FD in Italia è chiaro e costantemente aggiornato.

La malattia è presente in tutto il Nord Italia ed è in fase di espansione; di essa sono noti ceppi diversi che sembrano avere una differente distribuzione geografica (Martini *et al.*, 1999). 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, nell'Emilia-Romagna, Marche e Toscana. È importante sottolineare il fatto che l'areale di presenza della malattia è inferiore a quello del suo vettore; infatti esistono aree, sia in Italia che in Europa, in

cui è presente *S. titanus*, ma non ancora FD. È proprio in tali aree a rischio (per esempio, parte della Toscana, Friuli-Venezia Giulia o – in Europa – Slovenia, Croazia e Portogallo) che l'azione di lotta preventiva alla malattia deve essere particolarmente attenta.

#### Trasmissione dell'agente causale della flavescenza dorata

Schvester *et al.* (1961) dimostrarono che l'agente causale di FD è trasmissibile a mezzo della cicalina *Scaphoideus littoralis* (ora *S. titanus*). In seguito, numerosi altri lavori sperimentali hanno confermato la capacità vettrice di tale specie. Le ricerche fatte non hanno evidenziato finora l'esistenza di altri vettori del fitoplasma. *S. titanus* può raggiungere livelli di infettività superiori al 30% (Boudon-Padieu *et al.*, 1989) e può quindi essere considerato un vettore efficiente. Studi particolarmente reggiati 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. A livello sperimentale sono note altre due specie, *Euscelidius variegatus* ed *Euscelis plebejus* (ora *E. incisus*) in grado di trasmettere il fitoplasma di FD (Caudwell *et al.*, 1972). Tali specie, impiegate in condizioni controllate per trasmissioni su ospiti erbacei quali la fava, possono essere considerate vettori sperimentali del fitoplasma.

Oltre che per 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%; l'efficienza di propagazione varia 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 "standard" (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%. Ne consegue che gli scoppi epidemici di FD che si sono verificati e ancora si verificano nelle zone viticole non sono da imputare direttamente a piante di vite provenienti già infette dal vivaio. Con questo non si esclude affatto che si

possa imputare al vivaismo (o al trasporto di materiale vegetale) la responsabilità di diffondere la malattia anche ad aree lontane. In questo caso, anche poche o pochissime viti infette, possono innescare successive epidemie locali. Ovviamente, questo succede se in zona sono presenti contemporaneamente sorgenti di inoculo e vettori attivi.

#### *Piante ospiti della flavescenza dorata*

In quasi cinquanta anni di ricerche condotte su FD si è evidenziato che il ciclo epidemiologico della malattia è strettamente confinato al binomio vite/*S. tivanus*. 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. Tali differenze tra cultivar sono spesso valutate mediante osservazioni di campo. Questo metodo, indubbiamente valido, non è però sufficiente. Il confronto dell'incidenza, della frequenza e della gravità dei sintomi di FD su piante della medesima cultivar, allevate però in condizioni diverse, non può essere considerato universalmente valido. 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, i fenomeni di *recovery*, la pressione di infezione, la presenza di altri patogeni (oltre a FD), i parametri climatici, l'azione dell'uomo (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. Stabilire la suscettibilità e sensibilità di una cultivar (percentuale di piante infette e gravità dei sintomi) solo in base alle osservazioni di campo può quindi non essere sufficiente sotto il profilo sperimentale. Quello che ancora manca è un metodo efficiente di trasmissione del fitoplasma di FD; un metodo cioè che permetta di effettuare prove comparative di suscettibilità e sensibilità, impiegando cultivar diverse allevate in ambienti omogenei o controllati. Per ora è quindi difficile stilare una graduatoria di suscettibilità e di sensibilità a FD delle diverse cultivar di vite in base alle osservazioni di campo. Si può solo affermare che la malattia interessa sia cultivar bianche che rosse e che alcune di esse (per esempio, Chardonnay) dimostrano costantemente sintomi gravi. Per altre

sono noti fenomeni di *recovery* (per esempio, cv Prosecco) e per altre ancora sono note infezioni quasi sempre letali (per esempio, cv Perera).

Un altro aspetto non sufficientemente indagato in ambiente epidemiologico è il comportamento del portinnesto. Le osservazioni vengono infatti effettuate nella gran parte dei casi solo sulla cultivar produttrice, dimenticando che la vite è quasi sempre una pianta bimembre. Anche dopo l'avvento delle moderne tecniche diagnostiche, lo studio di FD a livello del portinnesto è stato trascurato. Non si sa, ad esempio, se e quanto i diversi portinnesti sono suscettibili alla malattia, se sono ospiti asintomatici, se e quanto sono in grado di trasmettere l'infezione alla marza, se vanno incontro a fenomeni di *recovery* etc. Anche in questo caso, l'assenza di un metodo di trasmissione del fitoplasma di FD efficiente rende difficile questo tipo di studi.

Accanto alla vite che, per quanto detto, è la pianta ospite elettiva di FD, sono note altre piante che possono essere infettate dal fitoplasma. Alcune – come la fava, il crisantemo carinato e la pervinca – sono ospiti sperimentali. Un'altra specie (*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 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.

#### *Considerazioni*

La flavescenza dorata, come tutte le fitoplasmosi, è una malattia tipicamente epidemica. In particolari situazioni – contemporanea presenza di vettori, di piante infette sorgenti di inoculo e di piante ospiti suscettibili – tale fitopatia può diffondersi rapidamente. Questo aspetto è particolarmente accentuato perché: *a*) la vite è una coltura a ciclo poliennale e risulta quindi ripetutamente esposta all'azione dei vettori; *b*) la trasmissione del suo agente causale è persistente e quindi il vettore rimane infettivo per lunghi periodi; *c*) il vettore è efficiente, strettamente ampelofago e può quindi infettare molte viti, anche nel corso di una sola stagione. Appare quindi evidente che le rapide diffusioni locali di FD sono attribuibili all'azione di *S. tivanus*. 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. È quanto può essere successo nella recente epidemia segnalata in Serbia dove, attorno all'area interessata dalla malattia, esiste un'ampia zona indenne da FD o non coltivata a vite.

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 (per esempio, trattamenti insetticidi), sulle sorgenti di inoculo (per esempio, eradicazione dei primi focolai) e sugli ospiti suscettibili (per esempio, "sfruttamento" del *recovery*). Chiaramente gli interventi devono essere coordinati, continuativi e soprattutto devono tenere conto della fase epidemica raggiunta al momento in cui vengono attuati.

Considerando la situazione italiana, si può certamente affermare che la flavescenza dorata costituisce un pericolo grave per la viticoltura. In poco più di un decennio, la malattia ha conquistato ampi territori tanto che in alcuni di essi può già essere definita come malattia endemica, cioè infeudata e stabilizzata nel territorio e caratterizzata da incidenze e frequenze variabili solo nello spazio. In tali aree, la malattia può essere quindi controllata ma non eradicata, se non convertendo la coltivazione della vite.

Anche se la lotta, necessariamente preventiva, viene applicata correttamente e con tutte le risorse possibili e conosciute, è comunque 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. Fanno testo le epidemie di scopazzi del melo in varie zone del Nord Italia, di moria del pero, di giallume europeo delle drupacee.

In questo quadro, indubbiamente preoccupante, alcuni fatti sono tuttavia di conforto. Il primo è che i viticoltori, il vivaismo e la ricerca sono interessati e attivi nel contrastare la malattia; il secondo è che, per analogia con altre malattie simili, a una fase epidemica esponenziale, segue spesso una fase "calante". È quanto già si osserva in alcune aree del Veneto e della Lombardia, ove le percen-

tuali di piante sintomatiche (e spesso anche la gravità dei sintomi) decrescono di anno in anno (Osler *et al.*, 2002; Bianco P.A., comunicazione personale). Le motivazioni di questo andamento non sono ancora chiarite. L'unico dato certo è che le viti possono andare incontro a fenomeni di *recovery*, cioè alla scomparsa spontanea dei sintomi (Caudwell, 1961). Questo fenomeno, facilitato dai trattamenti contro il vettore che riducono le continue reinfezioni alle piante, permette spesso di poter convivere con la malattia. Si può quindi affermare che la FD è sempre molto grave nelle zone di nuovo insediamento (se non adeguatamente contrastata), ma che col tempo tende a essere meno preoccupante.

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.

## 7.4 Misure di controllo

*Ruggero Osler*

La lotta contro FD è basata su interventi e strategie di tipo preventivo. Questi interventi sono diretti essenzialmente verso *a)* la pianta e il vigneto e *b)* il vettore responsabile della diffusione del fitoplasma causale. Gli interventi, in pratica, si applicano in modo integrato.

In questo lavoro, si è tuttavia preferito suddividere l'argomento in due paragrafi separati, con l'intento di semplificarne la stesura e la comprensione. Pertanto, si inizia attraverso l'illustrazione delle strategie e delle misure da adottare in varie situazioni epidemiologiche, e delle problematiche connesse con il vivaismo e il risanamento mediante termoterapia; si affronta quindi l'articolato argomento della lotta contro il vettore di FD, trattando dei principi attivi, delle strategie di lotta insetticida, dell'influenza di operazioni agronomiche sullo sviluppo di *Scaphoideus titanus*.

La descrizione di *Scaphoideus titanus* e del suo ciclo è presentata in una precedente sezione di questa pubblicazione.

### 7.4.1 Prevenzione e contenimento della flavescenza dorata

Carlo Frausin

#### Aspetti generali

È noto che in natura la flavescenza dorata della vite (FD) viene trasmessa da vite a vite a mezzo dell'insetto *Scaphoideus titanus* Ball, vettore epigeo alato, mobile, molto efficiente, praticamente monofago su vite, con un'unica generazione all'anno (Schvester *et al.*, 1961). Altra possibile via di diffusione di FD è quella a opera dell'uomo, mediante la propagazione di materiale vegetativo infetto. È stato comunque verificato che l'efficienza della propagazione di FD per innesto è molto bassa. Attraverso tale via è pertanto possibile la diffusione di FD a grande distanza, ma i casi epidemici non possono venir attribuiti direttamente al materiale vivaistico (Pavan *et al.*, 1997b; Osler *et al.*, 2002).

A differenza di quanto avviene per altri giallumi della vite (GY), la conoscenza delle vie di diffusione di FD facilita la messa a punto delle azioni di prevenzione e di contenimento della malattia. Esse consistono essenzialmente nella lotta contro il vettore e nell'eventuale eliminazione delle fonti di inoculo costituite dalle piante infette. Inoltre, deve essere assicurato l'utilizzo di materiale vivaistico non infetto. Tali azioni, concettualmente molto semplici, nella pratica applicazione trovano però numerosi ostacoli. Innanzitutto, importante è la notevole efficienza del vettore *S. titanus* capace di rendere rapidissima, quando non viene adeguatamente controllato, la diffusione di FD in un vigneto o anche in interi comprensori vitati, specialmente nel caso di continuità della coltivazione viticola.

L'impossibilità di distinguere, sulla base della sola osservazione dei sintomi, le viti affette da FD da quelle interessate da altri GY (legno nero = LN/BN e altri), con comportamento epidemiologico anche molto diverso, è un ulteriore fattore che accresce le difficoltà d'intervento (Belli *et al.*, 1994). Una diagnosi specifica è possibile solo con il ricorso ad analisi di laboratorio.

La manifestazione dei sintomi, inoltre, non è costante per cui è possibile avere piante infette non sintomatiche. I sintomi si possono manifestare per la prima volta anche dopo tempi di latenza relativamente lunghi, una o due stagioni vegetative dopo quella d'infezione (Caudwell *et al.*, 1987). Sono noti fenomeni di remissione dei sintomi (*recovery*), ma il destino di tali soggetti non è sempre univoco e, nel corso degli anni, sulla stessa vite i sintomi possono prima scomparire e poi ripresentarsi (Refatti *et al.*, 1998; Mutton *et al.*, 2003). Per FD sono noti casi in cui si è verificato un *recovery* gene-

ralizzato e stabile nel tempo, come quello del Prosecco nella zona di Valdobbiadene (Treviso) (Zucchetto, 1998; Osler *et al.*, 2002) e altri in cui le viti ammalate non risanano, come quello della Garganega nell'area del Soave (Posenato e Girolami, 1994; Posenato *et al.*, 1996).

La complessità e variabilità delle situazioni aumenta l'attenzione che deve essere posta nel decidere le misure da adottare per il controllo di flavescenza dorata.

#### Strategie di controllo di FD nei vigneti

La lotta a flavescenza dorata in Italia è stata resa obbligatoria con il D.M. n. 32442 del 31 maggio 2000. Tale disposizione individua compiutamente le linee d'intervento, distinguendo ciò che è possibile attuare in aree ancora indenni dalla malattia da ciò che invece bisogna fare nelle aree dove FD è già presente. In questa ultima eventualità, inoltre, il decreto distingue le azioni che bisogna attivare nel caso in cui si ipotizzi la possibilità di giungere all'eradicazione di FD (da una determinata zona, che assume la denominazione di "focolaio"), da quelle ove la malattia abbia raggiunto una situazione epidemiologica tale da far ritenere tecnicamente non più perseguibile l'eradicazione di FD ("zona di insediamento").

#### Misure da adottare nelle zone ancora indenni

Si deve premettere che, in tutti i casi, un'azione preventiva nei confronti di FD non può prescindere dalla preliminare acquisizione di dettagliate informazioni in merito alla presenza del vettore *S. titanus* e alla sua fenologia.

La ricerca di *S. titanus*, in un'area nella quale non ne è nota la presenza, può basarsi sulla sola ricerca degli adulti. Tale indagine viene normalmente effettuata installando 2-3 trappole cromotropiche gialle invischiare per stazione, nell'epoca di massima presenza degli adulti (da fine luglio a tutto agosto nelle condizioni dell'Italia settentrionale, presumibilmente un po' prima nel resto d'Italia). Le stazioni di monitoraggio vanno possibilmente scelte in vigneti adulti nei quali non vengono eseguiti trattamenti con insetticidi efficaci contro *S. titanus*. Le trappole, collocate all'interno della chioma della vite, vanno raccolte dopo circa 15 giorni dal loro posizionamento (Pavan *et al.*, 2005). Procedendo in questa maniera, con due sole visite per stazione, è possibile realizzare, con costi relativamente contenuti, un monitoraggio su un elevato numero di punti di osservazione; elemento, questo, assolutamente prioritario in un primo screening conoscitivo.

Nelle aree che risultano colonizzate da *S. titanus*

*nus*, al fine di razionalizzare la lotta insetticida, deve essere impostata un'attività per conoscere, con la massima precisione possibile, la fenologia dell'insetto. Il monitoraggio delle forme giovanili deve essere effettuato in vigneti non trattati con insetticidi mediante osservazione diretta dei germogli che crescono alla base del tronco della vite. A tal fine è opportuno che almeno su qualche filare di ciascun vigneto campione, le operazioni di spollonatura (sia manuale, sia meccanica) e di diserbo vengano rinviate a fine giugno. Nel corso dei campionamenti, a cadenza almeno settimanale, vengono prelevati germogli basali che devono essere tagliati con la forbice e osservati senza movimenti bruschi in quanto le forme giovanili spiccano dei salti quando vengono disturbate. Per l'esatta identificazione delle cinque età giovanili, oltre all'osservazione diretta, si procede alla raccolta, mediante apparecchio aspiratore, di alcuni esemplari dell'insetto che, dopo trattamento con acetato di etile, andranno osservati con l'ausilio di un binoculare stereoscopico. Buone indicazioni sulla fenologia della cicalina si possono ottenere campionando, nel corso di ciascuna visita, almeno un centinaio di germogli per vigneto. Il monitoraggio degli stadi giovanili va effettuato ogni anno ed è indispensabile per un corretto posizionamento degli interventi insetticidi. I momenti di intervento dipenderanno dal meccanismo di azione delle sostanze attive impiegate, nonché dalle finalità del trattamento medesimo; queste variano in funzione di diversi fattori, quali la presenza o meno di FD in zona, la concomitante presenza di altri fitofagi e l'eventuale destinazione vivaistica dell'impianto.

In alcune aree viticole, dove le popolazioni di *S. titanus* erano consistenti, si è dimostrato vincente, nel prevenire gravi epidemie di FD, l'utilizzo di sostanze attive efficaci, oltre che contro le tignole della vite, anche nei confronti della cicalina. Quando FD viene introdotta in un nuovo areale, la consistenza delle popolazioni di *S. titanus* (assieme alla contiguità delle superfici vitate) è elemento in grado di influire in modo determinante sulla gravità delle epidemie di FD.

Per impostare corrette strategie di intervento contro FD in un determinato territorio, è necessario possedere informazioni non solo sulla diffusione di *S. titanus*, ma anche sulla reale presenza della malattia. Una prima fase d'indagine può essere basata sulla ricerca nel territorio di viti che manifestano sintomi di GY. A tal fine risulta importante il livello di organizzazione della rete di vigilanza e di assistenza tecnica presente in una zona. Le Autorità fitosanitarie devono procedere a una preventiva sensibilizzazione delle strutture tecniche pre-

senti nel territorio addestrandolo i tecnici al riconoscimento dei sintomi dei GY e alla loro discriminazione da quelli dovuti ad altre cause (carenze nutrizionali, virus, attacchi di insetti).

Si è già accennato alle difficoltà derivanti dall'impossibilità di distinguere FD dagli altri GY sulla base della sola osservazione dei sintomi. Nel caso purtroppo frequente di aree dove già sono presenti altre fitoplasmosi della vite, la sola individuazione di viti con sintomi di GY non dà informazioni sull'incidenza di FD. Per dare un significato preciso all'indagine conoscitiva bisogna necessariamente procedere a specifiche analisi di laboratorio in modo da associare il fitoplasma causale alla sindrome osservata. In campo nazionale è stato definito un protocollo d'analisi per la ricerca di FD e di altre fitoplasmosi (Bertaccini *et al.*, 1996; Pasquini *et al.*, 2001; Martini *et al.*, 2002). Oggi sono numerosi i laboratori pubblici e privati in grado di effettuare tali analisi.

Il monitoraggio territoriale per l'individuazione di FD e del suo vettore è obbligo dei Servizi Fitosanitari Regionali (SFR), a termini dell'art. 2 del citato D.M. n. 32442 del 31 maggio 2000.

#### *Misure da adottare nelle zone dove la flavescenza dorata è già presente*

In caso di intercettazione di FD in una nuova area, e prima che essa assuma andamento epidemico, deve essere impostata una tempestiva azione di contenimento con l'obiettivo di giungere all'eradicazione della malattia. Tale azione è richiesta, tra l'altro, dalla normativa fitosanitaria comunitaria che, con l'art. 16 della Direttiva 2000/29/CE del Consiglio dell'8 maggio 2000, impone agli Stati membri di adottare tutte le misure possibili per il contenimento degli organismi nocivi "di quarantena", riportati negli allegati alla direttiva medesima, tra i quali rientra, per l'appunto, *Grapevine Flavescence dorée phytoplasma*.

Prima azione da intraprendere in tale evenienza è l'adozione di un efficace programma di lotta insetticida al vettore. Solitamente questa si basa su due interventi: il primo volto ad abbattere le popolazioni dell'insetto prima che questi raggiunga la quarta-quinta età giovanile (età nelle quali può già essere infettivo), e il secondo, tenuto conto della scalarità della schiusura delle uova e del successivo sviluppo della cicalina, finalizzato a eliminare i giovani nati successivamente al primo trattamento. Un terzo intervento insetticida, indirizzato contro gli eventuali adulti reimmigranti, viene previsto solo nei casi in cui l'assenza del vettore sia ancor più importante, come ad esempio nel vivaismo viticolo.

Questa difesa insetticida è veramente efficace solo se adottata in maniera puntigliosa da tutti gli

operatori di un comprensorio viticolo. Determinanti ancora una volta risultano le capacità organizzative dei viticoltori e delle relative strutture di assistenza tecnica. Ai viticoltori devono giungere messaggi chiari, tempestivi, diffusi capillarmente, con l'indicazione delle epoche di intervento e degli insetticidi impiegabili.

La verifica dell'effettiva attuazione della lotta contro il vettore deve essere effettuata, a campione, da parte delle Autorità fitosanitarie, con visite aziendali nelle quali *S. titanus* viene ricercato mediante la posa di trappole cromotropiche o, più semplicemente, mediante "frappage". La consistenza della popolazione del vettore fornisce indicazioni per eventuali indagini più approfondite da parte degli organi di controllo (analisi dei residui di insetticidi, indagine contabile e visione del "quaderno di campagna").

Nel caso in cui l'obiettivo dell'azione fitosanitaria sia l'eradicazione di FD da piccoli focolai localizzati, accanto alla lotta al vettore, dovrà essere prevista la sistematica eliminazione delle fonti di inoculo costituite dalle viti infette. La diffusione in zona di altri GY, con sintomatologia indistinguibile, complica l'operazione di eradicazione e comporta, nell'impossibilità pratica di procedere all'analisi di tutti i soggetti sintomatici, l'eliminazione non solo delle viti affette da FD, ma anche di quelle con sintomi riferibili a GY, con la conseguenza di aumentare anche di molto il numero delle viti sacrificate.

Le norme di lotta obbligatoria prevedono che sia il viticoltore a individuare ed eliminare delle viti sintomatiche. È difficile però ipotizzare che questa responsabilità possa ricadere solo sui viticoltori. Le Autorità fitosanitarie possono allora organizzare e avviare nelle aree di prima comparsa di FD il sistematico controllo del territorio vitato con squadre di accertatori che procedano all'individuazione dei soggetti con sintomi di GY e alla loro marcatura (Frausin, 2002). Purtroppo il tempo a disposizione per tali controlli è estremamente ridotto. Prima della metà di luglio, infatti, la quota di viti che manifestano sintomi di GY è molto contenuta e un'ispezione effettuata in epoca così anticipata comporta una sottostima delle viti ammalate. A partire da metà agosto iniziano le vendemmie e solo viti vendemmiate a mano possono essere ancora utilizzate per una diagnosi visiva; questo fino a quando la vegetazione non venga danneggiata dai primi freddi. Nel caso di viti vendemmiate meccanicamente, o quando i capi a frutto vengono tagliati per essere inseriti in specifiche macchine agevolatrici, non è più possibile effettuare diagnosi sicure.

All'individuazione di viti sintomatiche dovrà

seguire la notifica all'azienda dell'obbligo dell'estirpazione e, in seguito, la verifica dell'adempimento di lotta obbligatoria.

Per quanto concerne l'epoca in cui eliminare le viti sintomatiche, non sempre è necessario o conveniente intervenire immediatamente nel corso della stagione vegetativa. Se infatti il vettore è raro i rischi di aumentare le infezioni sono trascurabili, il viticoltore, soprattutto se la vite è produttiva, può attendere la vendemmia e procedere all'estirpazione della vite opportunamente marcata durante la stasi invernale. Anche nel caso in cui il vettore sia presente nel vigneto con popolazioni non trascurabili è dubbia la validità di procedere all'eliminazione delle viti infette all'atto della loro individuazione. In tal caso è probabilmente più importante prima eliminare i vettori infetti, se il rispetto dei tempi di carenza rende ancora possibili trattamenti insetticidi, e solo successivamente estirpare le viti sorgenti di inoculo. In caso di estirpo immediato di una vite infetta, si indurrebbe, infatti, un'eventuale vettore infetto presente su di essa a spostarsi immediatamente su altre viti, ancora sane, diffondendo così ulteriormente la malattia.

In ogni caso le viti sintomatiche devono essere eliminate mediante estirpazione (la sola capitozzatura non deve mai essere considerata pratica idonea a questi fini) prima della successiva ripresa vegetativa.

Negli appezzamenti vitati nei quali la presenza di piante con sintomi di GY è elevata, è probabile che anche molti soggetti asintomatici siano infetti e possano costituire fonte d'inoculo. Per tale motivo – oltre a considerazioni di tipo economico sulla validità di mantenere in essere vigneti menomati da un forte diradamento – quando la percentuale di viti sintomatiche accertate supera una determinata soglia (solitamente del 20 o 25%) è opportuno procedere all'estirpazione dell'intero appezzamento.

L'obiettivo di una completa eradicazione di FD non si è dimostrato affatto semplice da realizzare. Ad oggi non si è a conoscenza di casi in cui FD sia stata eradicata in modo completo e stabile da aree dove era presente il vettore *S. titanus*. Anche in casi nei quali si è intervenuti in modo tempestivo ed energico, la malattia, pur essendo stata contenuta a livelli estremamente ridotti, ha tuttavia continuato a persistere nel territorio vitato, a motivo dell'incostanza della sua manifestazione e della sua grande capacità di diffusione (Frausin e Osler, 2004; Malossini *et al.*, 2004).

Diversa deve necessariamente essere la strategia per contrastare FD in ampie aree viticole dove la malattia è ormai insediata e ha assunto un andamento epidemico. In questi casi il numero dei sog-

getti sintomatici presenti nei vigneti può essere anche molto elevato e, soprattutto in comprensori ampi e densamente vitati, una capillare e tempestiva azione di ispezione per individuare tutte le viti sintomatiche spesso risulta irrealizzabile. L'impatto economico derivante dall'eliminazione delle singole viti sintomatiche o di intere superfici vitate concorre ad aggravare i bilanci delle aziende viticole; l'eventuale intervento finanziario pubblico di sostegno richiede del resto notevoli risorse, non sempre disponibili.

Anche in tali condizioni prima e urgente misura da porre in atto è l'imposizione della lotta insetticida contro vettore. I risultati di tale strategia sono apprezzabili in breve tempo e il suo costo può essere sopportato dalle aziende in quanto non comporta le perdite produttive derivanti invece dall'eliminazione delle viti sintomatiche.

È possibile che in assenza di reinfezioni a opera del vettore, l'andamento epidemico della malattia si attenui e la presenza di viti sintomatiche vada progressivamente riducendosi (Pavan *et al.*, 1997a). Emblematico in tal senso è stato il caso del Prosecco, coltivato nelle colline trevigiane, in Veneto. Dopo alcuni anni di impatto violento della malattia, con l'adozione di adeguati piani di lotta insetticida, il numero delle viti sintomatiche si è rapidamente ridotto, riportando i vigneti nel giro di qualche anno a condizioni sanitarie del tutto soddisfacenti, senza ricorrere a estirpi ed epurazioni (Zucchetto, 1998). Di contro bisogna ricordare che nella medesima zona, la varietà Perera ha avuto ben diversa sorte: nell'arco di qualche anno, in presenza di una forte pressione di FD, le viti di tale vitigno sono state quasi tutte colpite dalla malattia e portate a morte (Borgo, 1996; Pavan *et al.*, 1997a). Il vitigno gioca pertanto un ruolo determinante sull'andamento della malattia in presenza di trattamenti insetticidi. Già dalle prime manifestazioni della malattia in Francia (Caudwell, 1981), era infatti noto che FD poteva dare esiti diversi a seconda del vitigno colpito. Si parlava di un andamento "tipo Nielluccio-Sangiovese", ove la pianta in breve veniva portata a morte da FD e un comportamento "tipo Ugni Blanc-Trebbiano toscano" ove invece la vite era in grado di superare l'infezione. Tra i due estremi è possibile osservare un'ampia gamma di condizioni intermedie.

Il fenomeno della regressione dei sintomi, soprattutto in presenza di un'attenta lotta insetticida al vettore, è reale e può essere determinante ai fini dell'andamento dell'epidemia. Non può però essere considerato fenomeno universale su cui contare a priori e in assoluto: è possibile conoscere la

sua reale valenza solo attraverso una specifica esperienza di campagna.

Ulteriore fattore di variabilità potrebbe derivare dai diversi ceppi di FD presenti. È noto che in Italia sono stati accertati almeno due ceppi di FD (Martini *et al.*, 1999), che si distinguono geneticamente tra loro: il ceppo 16SrV-C, assimilabile al ceppo "FD 70", diffuso in Veneto (provincia di Treviso), Friuli-Venezia Giulia, Piemonte e Liguria nonché il ceppo 16SrV-D, assimilabile al ceppo francese "FD 88", presente in Veneto (provincia di Verona e Vicenza), in Lombardia e in Emilia-Romagna. Alcuni Autori (Bertaccini, 2002) attribuiscono alla natura del ceppo di FD presente notevole rilevanza ai fini epidemiologici, segnalando una maggiore aggressività al ceppo 16SrV-D.

Solo dopo che sia stata superata la fase acuta dell'epidemia, con o senza l'adozione di misure obbligatorie per l'eliminazione dei soggetti sintomatici, potrà essere presa ancora in considerazione la possibilità di attivare un programma per l'eradicazione di FD. Tra i fattori che condizioneranno tale scelta, importante sarà l'eventuale diffusione sul territorio di GY diversi da FD, sui quali le misu-



1. Impianto di piante madri portinnesto  
Foto C. Frausin

re descritte non hanno incidenza. Questa sovrapposizione di GY, infatti, può influire in modo determinante sul costo e sull'impatto dell'eradicazione, e in definitiva determinarne la fattibilità e la convenienza economica.

In ogni caso, anche dopo l'esaurimento della fase acuta dell'epidemia, dovrà essere assicurato il contenimento delle popolazioni di *S. titanus* nel comprensorio viticolo. È stato dimostrato che in alcune realtà tale risultato può essere ottenuto anche riducendo la pressione insetticida. Una volta riportate a bassi livelli, le popolazioni del vettore possono essere contenute anche dai trattamenti effettuati contro altri fitofagi nell'ambito di strategie di lotta integrata, quindi senza ricorrere a interventi specifici (Girolami *et al.*, 2002).

In ogni caso, anche prescindendo da valutazioni economiche dirette, le Autorità fitosanitarie locali nell'implementare misure di lotta obbligatoria devono comunque tendere a limitare la diffusione di FD verso zone ancora indenni. Per tale motivo, qualunque sia la strategia adottata all'interno del comprensorio colpito, al suo margine, verso zone ancora indenni dovranno essere poste in atto con tempestività le stesse misure che sono state espone per l'eradicazione di FD dai focolai; questo, in modo da creare una fascia di protezione fitosanitaria, eventualmente sfruttando favorevoli elementi geografici (catene montuose, zone non coltivate a vite, alvei fluviali etc.).

### Strategie di controllo di FD nel vivaismo viticolo

In tutti i segmenti dell'attività vivaistica vi sono rischi potenziali ai fini della diffusione di FD:

- raccolta e movimentazione di talee, di portinnesti e di nesti infettati dal fitoplasma (derivanti da viti infette e sintomatiche, oppure da viti infette asintomatiche);
- ottenimento di barbatelle infette mediante innesto di bionti infetti;
- ottenimento di barbatelle infette a seguito di inoculazioni del fitoplasma operate da *S. titanus* in barbatellaio;
- movimentazione di materiali di propagazione (talee di portinnesti, nesti, barbatelle) con uova di *S. titanus* in aree dove non è ancora presente il vettore.

La normativa fitosanitaria in vigore nell'Unione Europea disciplina la produzione di materiale vivaistico della vite e include FD tra le malattie di quarantena delle quali devono essere vietati l'ingresso e la circolazione all'interno dell'Unione Europea. La



2. Messa a dimora delle barbatelle

Foto C. Frausin

malattia è infatti inserita nell'allegato II della Dir. 2000/29/CE (e in precedenza nella omologa Dir. 77/93/CEE) che stabilisce l'elenco di detti organismi. La medesima disposizione, recepita in Italia con il D.M. 31 gennaio 1996, stabilisce i requisiti particolari che devono essere soddisfatti da tutti indistintamente i materiali di propagazione della vite (ad eccezione dei frutti e delle sementi) per poter circolare nell'Unione Europea. Al punto 17 dell'Allegato IV alla Direttiva 2000/29 (punto 18 del testo del recepimento italiano) si stabilisce che vegetali di viti possono circolare solo se c'è "constatazione ufficiale che nessun sintomo di *Grapevine Flavescence dorée* MLO è stato osservato sulle piante madri nel luogo di produzione, dall'inizio degli ultimi due cicli vegetativi completi".

Con detta norma si è considerata determinante la condizione fitosanitaria degli impianti delle piante madri e si è resa obbligatoria l'ispezione fitosanitaria. In relazione all'incostanza della manifestazione dei sintomi di FD e alla possibilità di lunghi periodi di latenza, è previsto il controllo visivo delle piante madri almeno durante le due stagioni vegetative anteriori al prelievo del materiale. La dicitura "nel luogo di produzione" comporta, in caso di individuazione di viti con sintomi riferibili a FD, l'impossibilità di prelievo di materiale vivaistico dall'intero appezzamento. Non sono previsti riscontri analitici per la distinzione dei diversi fitoplasmi.

Oltre a questa norma fitosanitaria di validità generale, in Italia il D.M. 31 maggio 2000 di lotta obbligatoria a FD impone ulteriori adempimenti per l'attività vivaistica. Tra questi la lotta contro *S. titanus*, l'assenza del quale deve essere assicurata



**3. Impianto di barbatellaio**

Foto C. Frausin



**4. Trattamento fitosanitario in un barbatellaio**

Foto C. Frausin

sia dai campi di piante madri (di marze = PMM e di portinnesto = PMP), sia dai barbatellai.

Ulteriori disposizioni di dettaglio sono state disposte dal Ministero delle Politiche Agricole e Forestali – Servizio Fitosanitario Centrale con la circolare n. 32285 del 28 novembre 2001 che ha ritenuto di normare alcuni casi specifici tra i quali l'utilizzazione di materiali di provenienza aziendale per la produzione, presso vivaisti, di barbatelle "in conto lavorazione".

Nella pratica, con l'applicazione della normativa sopra illustrata, è possibile garantire un elevato grado di sicurezza per il materiale vivaistico di vite, anche considerando che la trasmissibilità del fitoplasma per innesto è trascurabile. Infatti sia nel caso di BN che di FD, la trasmissibilità del fitoplasma a mezzo della pratica dell'innesto è risultata molto ridotta (Credi *et al.*, 1990; Vindimian *et al.*, 1993; Osler *et al.*, 1997, 2002). Anche nel peggiore dei riscontri sperimentali, ossia utilizzando marze provenienti esclusivamente da viti sintomatiche, l'indice di riproduzione dei sintomi di FD è variato dal 4 al 16% (Pavan *et al.*, 1997b; Osler *et al.*, 2002). Utilizzando marze ottenute da viti asintomatiche di vigneti comunque infetti, la percentuale di propagazione di FD per innesto è stata drasticamente ridotta (0,4%).

Per quanto bassa sia la sua efficienza, comunque, la trasmissione a mezzo dell'innesto rimane pur sempre possibile. I vigneti di piante madri vanno pertanto ispezionati annualmente al fine dell'individuazione di eventuali viti con sintomi di GY. Le ispezioni vanno effettuate in epoca idonea e, se limitate a una visita annuale, devono avvenire dopo la metà di luglio e prima della vendemmia.

Le viti vanno attentamente osservate in entrambe le facce del filare, per l'individuazione di sintomi di GY. Le piante risultate sintomatiche devono essere marcate con sistemi indelebili; si deve inoltre prendere nota della loro localizzazione e farle estirpare. In caso di rinvenimento di viti sintomatiche è opportuno che queste siano analizzate per conoscere il fitoplasma associato all'alterazione. Nel caso di riscontro di FD, infatti, l'impianto dovrà essere escluso dal prelievo di materiali di moltiplicazione, fin tanto che, per due anni di seguito, non venga constatata l'assenza di viti con sintomi di GY. Per questo motivo è opportuno che il vivaista continui a segnalare il campo di viti madri (nella denuncia annuale) all'Autorità competente per il controllo vivai e al SFR. Nel caso in cui le analisi molecolari evidenzino che i sintomi osservati vanno attribuiti a GY diversi da FD, (fermo restando il divieto di prelievo dalle viti sintomatiche che vanno eliminate), il campo continuerà a essere idoneo per il prelievo di materiale. Tuttavia, – in base ai requisiti previsti dall'Allegato I del DPR 24 dicembre 1969, n. 1164 per la commercializzazione di materiale vivaistico della vite – i vigneti con percentuali di viti sintomatiche superiori al 5-10% vanno comunque esclusi dalla filiera vivaistica. Si precisa che la soglia del 5% si riferisce alla produzione di materiale di categoria "certificato" (= cartellino azzurro) e quella del 10% a materiale "standard" (= cartellino giallo). Nel caso di riscontro di sintomi in campo e in assenza di valutazioni analitiche si dovrà agire secondo criteri di precauzione.

Oltre ai campi di PMM e PMP anche i barbatellai vanno sottoposti a ispezione visiva per accertare

l'assenza di giovani piante sintomatiche. Nel caso di riscontri positivi è consigliabile eliminare dal vivaio l'intera produzione della specifica combinazione d'innesto.

È di assoluta importanza garantire che nell'intera filiera produttiva – incluse le piante madri – *S. titanus* non sia presente. Negli impianti per la produzione di talee di portinnesto è tradizionalmente adottata una serrata lotta insetticida per il controllo delle generazioni gallecole della fillossera (*Daktulosphaira vitifoliae* Fitch); queste misure, con qualche adattamento, risultano utili anche per il contenimento di *S. titanus*. Negli impianti di PMM, invece, vengono effettuati interventi specifici contro la cicalina, che debbono interessare sia i vigneti a diretta conduzione del vivaista, sia quelli a doppia utilizzazione (gestiti da aziende viticole che producono normalmente l'uva e cedono al vivaista il legno di un anno). Infatti, anche questi ultimi sono da considerare impianti vivaistici a tutti gli effetti e come tali vanno gestiti.

Il vivaio costituisce un punto critico per la possibile infezione delle barbatelle. La presenza in barbatellaio di vettori infetti può determinare, infatti, trasmissioni del fitoplasma, con conseguente ottenimento di barbatelle ammalate, magari non sintomatiche. È di estrema importanza, allora, che il vivaista in questa fase produttiva eserciti una forte pressione insetticida contro *S. titanus*. I tre interventi insetticidi solitamente proposti si sono dimostrati sufficienti per contenere in maniera eccellente la cicalina (Frausin *et al.*, 1999b). Va ricordato, comunque, che la probabilità di avere *S. titanus* infetti nei barbatellai sono molto ridotte e dipendono in maniera praticamente esclusiva dall'immigrazione in essi di individui provenienti da vigneti non trattati con insetticidi, posti nelle loro vicinanze. I rischi derivanti da nascite della cicalina in barbatellaio sono infatti trascurabili in quanto si utilizza solo legno di un anno di età, prelevato comunque da vigneti di piante madri trattati abbondantemente con insetticidi (è noto che *S. titanus* depone le uova quasi esclusivamente su legno di due anni); inoltre questi individui difficilmente trovano in vivaio barbatelle su cui infettarsi. In vivaio è opportuna comunque un'attenta azione di monitoraggio anche attraverso l'uso di trappole cromotropiche che vanno poste, compatibilmente con le frequenti operazioni meccaniche, tra le chiome delle barbatelle. Dovranno inoltre essere attentamente valutate le condizioni di isolamento del barbatellaio che sarà preferibile istituire al di fuori delle zone ad alta densità vitata e comunque lontano da vigneti non debitamente trattati con insetticidi.

Tali valutazioni possono condurre il SFR competente per territorio ad adottare misure di carattere obbligatorio in zone dove si svolge attività vivaistica, anche se ancora indenni da FD.

### *Gli interventi di risanamento*

La lotta al vettore e l'esclusione della presenza di viti infette, nei vigneti di piante madri e in barbatellaio, costituiscono il presupposto per l'ottenimento di materiali di propagazione sicuri dal punto di vista fitosanitario.

Esistono però esigenze particolari che consigliano il ricorso a misure di risanamento dei materiali di moltiplicazione anche dopo il loro conferimento al vivaio. Ciò vale, ad esempio, nel caso di materiali che sono stati prodotti in condizioni di sicurezza insufficienti (per esempio, marze prelevate da impianti poi risultati infetti; marze ottenute da impianti non controllati nel biennio precedente; consistenti immigrazioni del vettore nei barbatellai etc.), oppure nel caso di specifiche esigenze di quarantena, ad esempio, imposte dal Paese importatore.

Al momento, stante il divieto di ricorrere all'uso di antibiotici e di sulfamidici nella difesa delle piante, non esiste la concreta possibilità di eliminare chimicamente il fitoplasma eventualmente presente in vite. Verifiche operate con sostanze chimiche ad azione battericida, quali il Virkon, non hanno prodotto esiti positivi (Bertaccini *et al.*, 2001).

Una tecnologia segnalata da diversi decenni per il risanamento di materiali di propagazione di specie vegetali è quella della termoterapia in acqua calda (Baker, 1962). Nel caso della vite (Caudwell, 1966) consiste nell'immersione in acqua calda di marze, portinnesti o talee innestate, per tempi variabili da 10 minuti a più ore in funzione della temperatura prescelta (45-55°C). Sono stati definiti specifici diagrammi (Goheen *et al.*, 1973; Caudwell *et al.*, 1990) della relazione temperatura/tempo di immersione per l'effettuazione dell'intervento, con il rispetto della doppia esigenza di devitalizzare il fitoplasma e nel contempo preservare le qualità vivaistiche dei materiali trattati. Verifiche e adattamenti del sistema sono stati realizzati anche in Italia (Bianco *et al.*, 2000; Bertaccini *et al.*, 2001). Per il trattamento vengono utilizzati bagni termostatici anche di dimensione notevole, la cui complessità costruttiva è imposta dall'esigenza di assicurare una temperatura uniforme nell'intera massa trattata.

Il metodo ha trovato conferme di fattibilità e in alcuni Paesi (USA, Australia e Sud Africa) è stato da tempo proposto per l'eliminazione anche di altre

malattie della vite quali il tumore batterico (Bazzi *et al.*, 1991), la malattia di Pierce (Goheen *et al.*, 1973), e i funghi precursori del mal dell'esca (Edwards *et al.*, 2004). Nel mondo vivaistico italiano sulla tecnica vengono espresse perplessità di fondo: non sempre, infatti, si sono avute assicurazioni di affidabilità ai fini della conservazione delle qualità vivaistiche dei materiali trattati (Borgo *et al.*, 1999; Frausin *et al.*, 1999a). Pertanto la termoterapia in acqua calda è utilizzata solo per particolari esigenze, per lo più per movimentare specifiche partite di talee. Certamente non ha trovato largo impiego per il trattamento delle grandi partite di barbatelle.

I trattamenti termici non compromettono la vitalità del materiale vivaistico se il legno è ben maturo (come avviene di norma in località molto calde e asciutte, per esempio, in Australia); possono essere invece rischiosi per materiale vivaistico raccolto in ambienti in cui la maturazione del legno è incompleta. Inoltre, per il momento, non sono stati progettati impianti di termoterapia a elevata capienza in grado di funzionare in regime di continuità.

Si ritiene, inoltre, che prima di prevedere la generalizzata adozione della termoterapia nella filiera produttiva vivaistica, siano anche da indagare approfonditamente le conseguenze del trattamento sui numerosi organismi che vivono associati a vite (endofiti e non), verificando il loro ruolo, nonché gli effetti della loro eventuale devitalizzazione (Sharmini *et al.*, 2004; Di Marco *et al.*, 2004; Musetti *et al.*, 2004; Ragazzi *et al.*, 2004).

Più frequente, negli scambi intercontinentali di materiali vivaistici, è invece il trattamento delle barbatelle con immersione in miscele ad azione insetticida (EPPO, 1988). Si presume che questa operazione possa eliminare le eventuali uova di *S. titanus* deposte sui fusti delle barbatelle. Del tutto abbandonata, sembra invece la tecnica di fumigazione con il bromuro di metile, altamente fitotossica se la superficie del materiale vegetale da trattare è bagnata.

Altre vie di difesa dai giallumi (GY) sono in corso di studio. Sono stati avviati, ad esempio, programmi di ricerca per l'individuazione di fonti di resistenza di varietà di viti tolleranti. Promettenti sembrano le ricerche attivate in Francia per l'ottenimento di viti geneticamente modificate mediante l'inserimento di geni in grado di indurre un'azione di tipo anticorpale nei confronti di patogeni floematici. Si tratta di prospettive che, per i tempi di realizzazione e per il quadro normativo vigente, appaiono, comunque, ancora lontane dall'essere realizzate.

#### 7.4.2 Controllo della flavescenza dorata attraverso la lotta contro il vettore *Scaphoideus titanus* Ball

Francesco Pavan, Giorgio Stefanelli,  
Alberto Villani, Nicola Mori, Gabriele Posenato,  
Alberto Bressan, Vincenzo Girolami

La flavescenza dorata (FD) è un giallume della vite (fitoplasmosi) il cui agente causale è trasmesso da *Scaphoideus titanus* Ball (Homoptera, Cicadellidae) (Schvester *et al.*, 1961, 1963; Carraro *et al.*, 1994; Bianco *et al.*, 2001; Mori *et al.*, 2002) (foto 5).

Gravi epidemie di FD si sono verificate solo in aree viticole e in vigneti ove l'impiego di insetticidi per il controllo di altri fitofagi era limitato e le densità di popolazione di *S. titanus* erano elevate (Pavan *et al.*, 1987, 1997; Borgo, 1988, 1996; Posenato *et al.*, 1996a, 1996b; Cravedi *et al.*, 1992; Lozzia, 1992; Mori *et al.*, 1999a; Cravedi e Nicoli Aldini, 2000; Vercesi e Scattini, 2000; Bosio *et al.*, 2001; Cravedi e Mazzoni, 2002). I trattamenti insetticidi risultano infatti il fattore più importante che influenza la densità delle popolazioni di *S. titanus* (Posenato *et al.*, 1996a, 2001; Mori *et al.*, 1999a; Mori, 2004; Pavan *et al.*, 2005), ma essa può variare anche in funzione del vitigno (Borgo, 1988; Bosio *et al.*, 2001). La densità di vegetazione e la vigoria delle viti, così come un'esposizione dei vigneti protetta dal vento, potrebbero essere fattori favorevoli ad elevate popolazioni del vettore (Vidano, 1966).

L'esistenza di una relazione fra l'entità delle popolazioni di *S. titanus* e l'incremento della malattia è ritenuta un dato acquisito, anche se non sono stati effettuati studi specifici. Indirette e chiare conferme di tale relazione derivano comunque dal fatto che la lotta insetticida contro *S. titanus* è efficace al fine di ridurre l'incidenza di FD (Schvester, 1969; Posenato *et al.*, 1996a; Belli *et al.*, 1997) e dal fatto che nella stessa area viticola i vigneti non trattati con insetticidi presentano un'incidenza della malattia molto più elevata di quelli trattati (Bellotto, 2004). In generale, non è comunque possibile stabilire una relazione univoca fra densità di un vettore e incremento di una malattia a causa dell'interferenza di molteplici fattori quali la mobilità del vettore, la sua preferenza e il comportamento alimentare nei confronti della pianta ospite, l'interazione fra vettore e patogeno, la suscettibilità della pianta ospite e l'inoculo di partenza (Purcell, 1985).

Le strategie di lotta contro il vettore si basano essenzialmente sull'impiego di insetticidi, benché non siano trascurati interventi di lotta agronomica e in prospettiva si speri di raggiungere un controllo naturale del vettore a densità non dannose.



5. Adulto di *Scaphoideus titanus*

Foto A. Villani

#### LOTTA INSETTICIDA CONTRO *S. TITANUS*

La lotta insetticida contro il vettore ha avuto successo non solo per l'elevata efficacia nel ridurre l'incidenza di FD (vedi, per esempio, *fig. 1a*), ma anche per la sua economicità e facilità di attuazione.

#### Efficacia della lotta insetticida

La possibilità di controllare una malattia attraverso la lotta chimica contro il vettore non è comunque a priori scontata (Maramorosch, 1988). Limitandosi alle fitoplasmosi della vite è noto, ad esempio, che la lotta insetticida nei vigneti non è sinora risultata efficace per il contenimento del legno nero della vite (Pavan, 1989; Pavan *et al.*, 1989; Sforza e Boudon-Padieu, 1998; Cavallini *et al.*, 2003).

Da un punto di vista teorico l'efficacia della lotta insetticida contro *S. titanus* trova una convincente spiegazione nelle seguenti argomentazioni:

- a) il cicadellide è un facile bersaglio, in quanto è monofago su piante del genere *Vitis*. Il rinvenimento occasionale di adulti di *S. titanus* su altre specie legnose, presenti nelle siepi attorno ai vigneti, non è tale da far temere consistenti ricolonizzazioni (Schvester *et al.*, 1962a, 1962b; Pavan, 2000);
- b) l'insetto completa una sola generazione all'anno per cui le sue popolazioni, dopo un trattamento insetticida, possono riprendersi solo nell'annata successiva;
- c) benché recentemente il fitoplasma agente di FD sia stato rinvenuto in *Clematis vitalba* L. (Angelini *et al.*, 2003b, 2004) e occasionalmente forme giovanili di *S. titanus* siano state osservate su altre piante legnose (Schvester *et al.*, 1962b), la vite in natura è, sulla base delle conoscenze attuali, l'unica pianta su cui le forme giovanili di *S. titanus* possono infettarsi.



6. Forma giovanile di quinta età di *S. titanus*

Foto A. Villani

Poiché i vigneti (o singole viti) non trattati con insetticidi possono essere sorgente sia del vettore (ricolonizzazioni), sia del fitoplasma (nuove infezioni), la salvaguardia di quelli trattati è migliore se la lotta insetticida viene estesa a tutti gli impianti presenti in un dato territorio (Carle e Schvester, 1964; Planas, 1987; Pavan *et al.*, 2005).

Al fine di utilizzare nel modo più efficiente la lotta chimica è importante capire attraverso quali processi si ottiene il risanamento dei vigneti infetti. Ai trattamenti insetticidi sono state associate:

- a) una riduzione delle nuove infezioni (vedi, ad esempio: Posenato *et al.*, 1996a; *fig. 1b*);
- b) una riduzione delle reinfezioni.

Questo secondo aspetto è importante solo se le viti infette sono in grado di risanare. Il ruolo delle reinfezioni nella ricomparsa della malattia in viti divenute asintomatiche è stato ritenuto importante sin dalle prime ricerche (Caudwell, 1961), anche se lo stesso fenomeno è stato in parte attribuito a un momentaneo mascheramento della malattia (viti infette, ma non sintomatiche) (Schvester, 1969). Per quantificare l'importanza delle reinfezioni nel manifestarsi della malattia bisognerebbe confrontare l'incidenza del risanamento in vigneti rispettivamente con elevate (testimoni) e contenute popolazioni di *S. titanus* (trattati con insetticidi). Da un'indagine effettuata nell'area del Prosecco (provincia di Treviso) è risultato chiaramente che a partire dall'anno successivo all'inizio dei trattamenti insetticidi, le percentuali di risanamento sono aumentate (*fig. 1c*) e le perdite di produzione nelle viti con sintomi sono diminuite (*fig. 1d*). Questi dati suggeriscono che l'abbattimento delle popolazioni del vettore favorisce non solo il risanamento delle viti, ma anche la diminuzione dell'entità dei danni in quelle ancora sintomatiche.

**Epoche di intervento e numero di trattamenti**

L'efficacia della lotta chimica contro il vettore nel ridurre l'incidenza della malattia dipende da:

- a) il livello di contenimento delle popolazioni del vettore;
- b) l'eliminazione del vettore prima che questo sia infettivo.

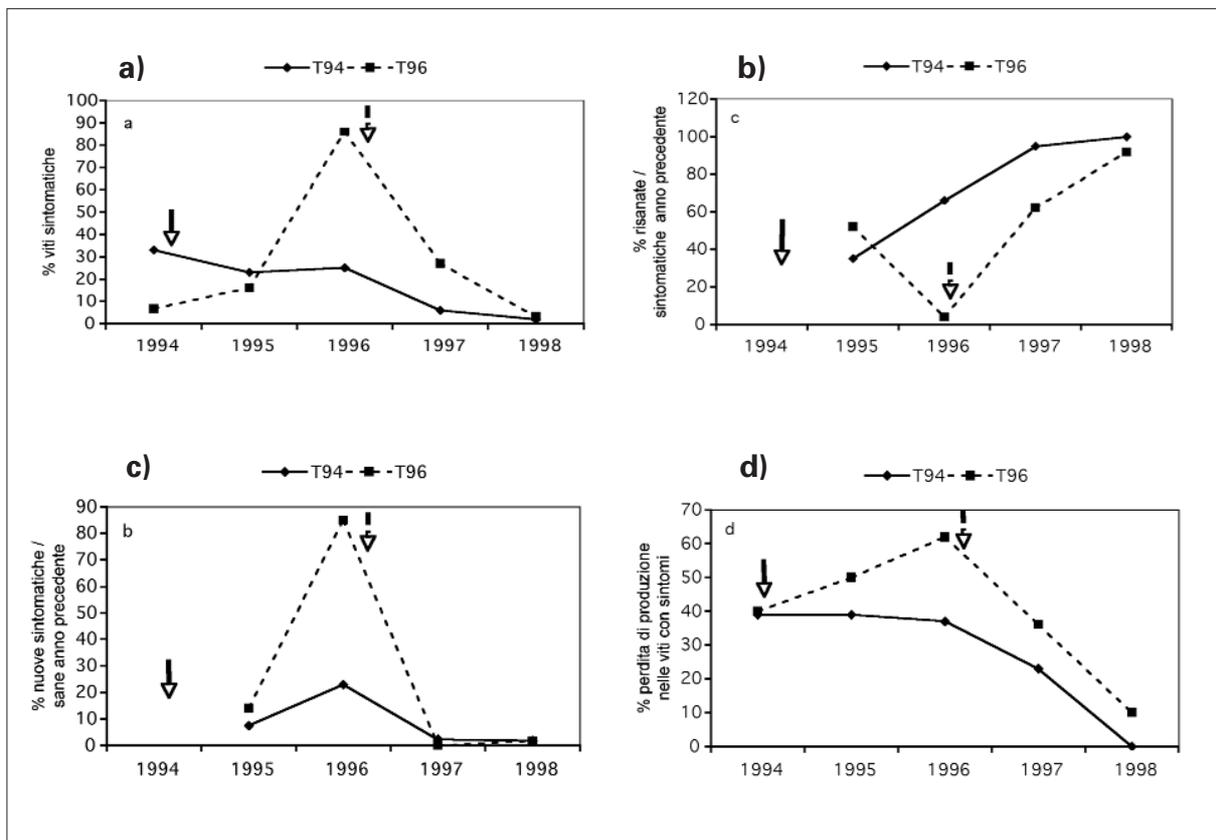
L'abbattimento delle popolazioni di *S. titanus* dipende dalle sostanze attive utilizzate, dall'epoca di impiego (in generale i trattamenti sono più efficaci contro le forme giovanili che contro gli adulti, e le prime età giovanili sono più sensibili delle ultime) e dal numero di trattamenti effettuati.

Secondo Autori francesi, su vite i primi individui del vettore diventano infettivi fra la quarta e la quinta settimana da quando hanno iniziato a nutrirsi su una vite infetta (Schvester *et al.*, 1969). Le prime infezioni si potrebbero quindi teoricamente verificare a circa 30 giorni dall'inizio della schiusura delle uova, in coincidenza con la comparsa dei primi individui di quarta o quinta età (vedi, ad esempio, le fenologie riportate in: Lozzia, 1992; Stefanelli *et al.*, 2000; Bosio e Rossi, 2001). Recenti ricerche svolte in Italia hanno potuto veri-

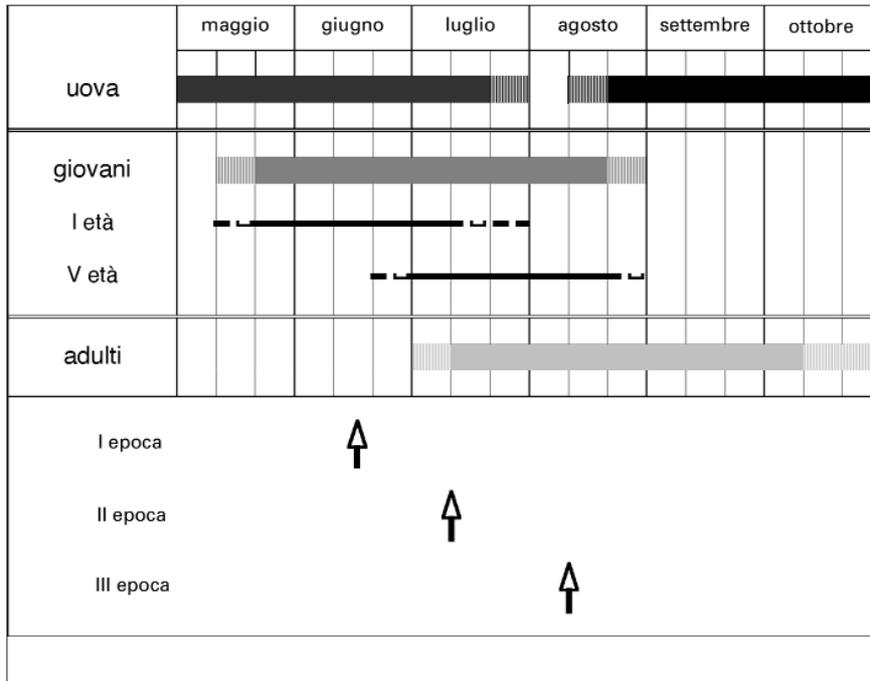
ficare che già le forme giovanili di quarta-quinta età (*foto 6*), catturate in vigneti infetti, possono trasmettere l'agente causale di FD (A. Bressan e V. Girolami, dati non pubblicati).

Un trattamento insetticida per evitare tutte le infezioni dovrebbe essere effettuato prima che la cicalina divenga infettiva. È opportuno comunque osservare che quando compaiono i primi individui in grado di trasmettere il fitoplasma, il rischio di infezioni è basso per i tre seguenti motivi:

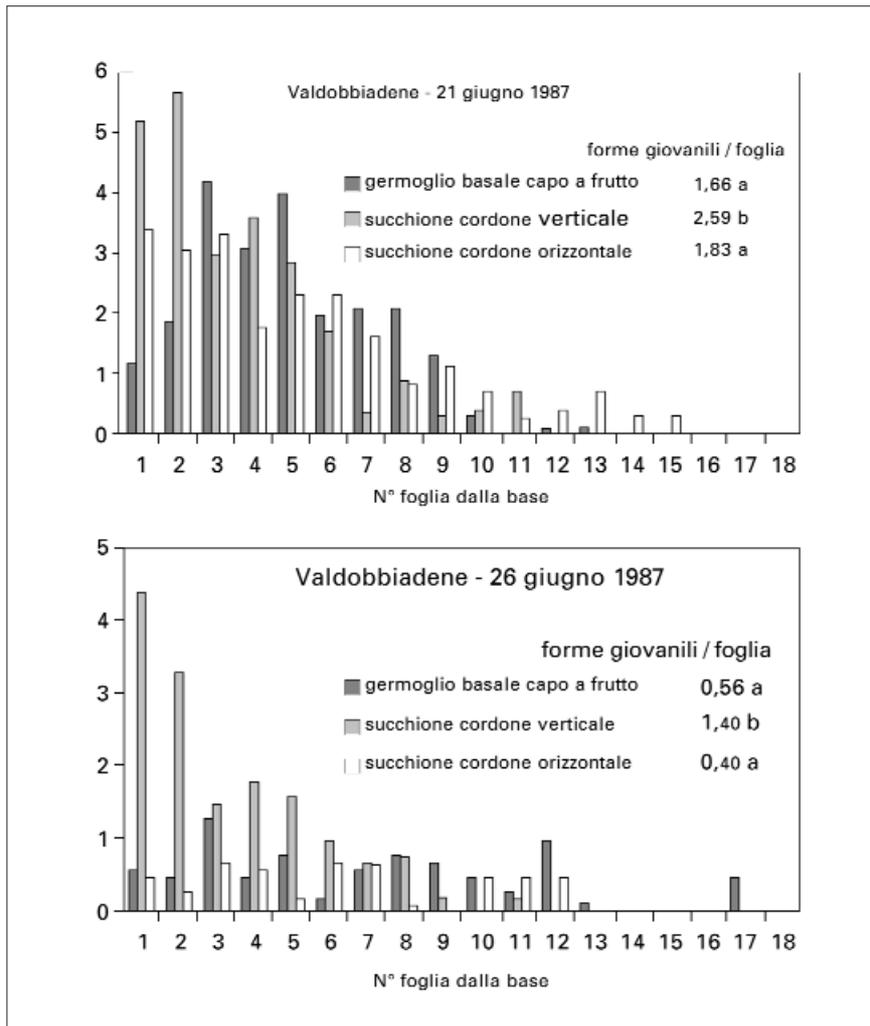
- a) la schiusura delle uova è molto scalare (dura circa due mesi) e presenta un picco in giugno per cui la quota di forme giovanili nate nel primo periodo è trascurabile;
- b) la proporzione di individui infetti aumenta nel corso della stagione (Schvester *et al.*, 1963); tale fatto potrebbe dipendere sia dalla minore capacità delle prime età giovanili ad acquisire il fitoplasma (Schvester *et al.*, 1969), sia dal basso inoculo iniziale evidenziato dalla gradualità con cui le piante ammalate manifestano i sintomi;
- c) il numero di viti che le forme giovanili di quarta-quinta età possono inoculare è limitato, considerata la loro scarsa capacità di spostamento.



**Fig. 1** - Andamento di FD in due vigneti di Prosecco trattati con insetticidi contro il vettore *S. titanus* a partire rispettivamente dal 1994 (T94; alta pressione insetticida solo dal 1996) e dal 1996 (T96) [rielaborato da Pavan *et al.*, 1997 e Zucchetto, 1998]. Le viti sintomatiche non sono state estirpate



**Fig. 2 - Ciclo biologico di *S. titanus* nell'Italia nord-orientale e strategie di lotta insetticida. Le frecce indicano i periodi ottimali in cui effettuare i trattamenti insetticidi con prodotti neurotossici [rielaborato da Pavan e Stefanelli, 2000]**



**Fig. 3 - Influenza della posizione del germoglio all'interno della pianta e della foglia lungo il germoglio sulla densità di popolazione delle forme giovanili di *S. titanus* (viti di cv Prosecco allevate a parete verticale) [Pavan, dati non pubblicati]**

Partendo da queste considerazioni è stato proposto un modello in cui si evidenzia che il rischio di infezioni in funzione del tempo ha un andamento tipicamente esponenziale, anche in conseguenza del fatto che il fitoplasma, una volta acquisito, può essere trasmesso in modo persistente (Bressan *et al.*, 2003). La probabilità di nuove infezioni è trascurabile fino a 40 giorni dall'inizio della schiusura delle uova e, quando risultano basse sia la densità di popolazione di *S. titanus*, sia la percentuale di viti sintomatiche (sorgenti di infezione, da cui la cicalina può acquisire il fitoplasma), fino a 50 giorni dalla comparsa delle prime forme giovanili. Questo momento coincide con lo sfarfallamento dei primi adulti.

A causa della scarsità nella schiusura delle uova (per l'Italia settentrionale si vedano, ad esempio, i lavori di: Vidano, 1964; Pavan e Stefanelli, 2000) (*fig. 2*) risulta che un solo intervento insetticida, effettuato prima della comparsa delle prime forme giovanili potenzialmente infettive (quarta-quinta età giovanile), non può garantire un'efficacia adeguata contro le popolazioni della cicalina più tardive. È necessario pertanto effettuare un secondo trattamento. Questo andrà teoricamente posizionato a non oltre quattro settimane dal primo intervento, per evitare che gli individui nati dopo il trattamento possano diventare infettivi, e verso la fine della schiusura delle uova, in modo che la persistenza dell'insetticida sia sufficiente a controllare tutti gli ultimi nati.

Il momento ottimale in cui effettuare i singoli interventi dipenderà non solo dalla fenologia dell'insetto, che varia in relazione all'area viticola e all'andamento meteorologico stagionale, ma anche dall'insetticida utilizzato (vedi § *Sostanze attive utilizzabili*).

In Francia venivano consigliati altri due interventi insetticidi (Planas, 1987), rispettivamente in inverno contro le uova svernanti e in estate contro gli adulti provenienti dall'esterno. Il trattamento ovicida è comunque relativamente poco efficace (Carle e Schvester, 1964; Moutous *et al.*, 1977; Carraro e Pavan, 1988; Rousseau, 1997), essendo le uova deposte nel ritidoma e quindi difficilmente raggiungibili dall'insetticida. Il trattamento adulticida, di cui è difficile valutare l'efficacia e utilità pratica in quanto il volo degli adulti dura normalmente da inizio luglio a ottobre, è teoricamente tanto più efficace quanto più persistente è la sostanza attiva utilizzata (Posenato *et al.*, 2002). Dovendo effettuare un singolo intervento adulticida, è presumibile ottenere la massima efficacia trattando in coincidenza con il picco di presenza degli adulti che si verifica fra la fine di luglio e la metà di

agosto, a seconda della zona viticola e dell'annata considerate. L'utilizzo di insetticidi persistenti ha comunque effetti collaterali negativi in quanto può favorire sia pullulazioni indotte di acari tetranichidi sia la selezione di fitofagi resistenti (vedi § *Sostanze attive utilizzabili*).

Sulla base delle considerazioni sopra esposte le strategie di intervento, adottate in Italia, si sono concentrate sui trattamenti primaverili-estivi posizionati contro le forme giovanili (Posenato *et al.*, 1996b; Belli *et al.*, 1997; Pavan e Stefanelli, 2000; Bosio *et al.*, 2001; Cravedi e Mazzoni, 2002).

#### *Monitoraggio di Scaphoideus titanus*

Il campionamento delle popolazioni della cicalina è importante al fine di ottimizzare le strategie di lotta e per verificarne l'efficacia.

#### *Monitoraggio delle forme giovanili*

Il campionamento delle popolazioni delle forme giovanili è utile per stabilire:

- a) l'inizio della comparsa di alcune età (prima, quarta, quinta);
- b) la proporzione delle diverse età nel tempo.

Le forme giovanili di *S. titanus* sono maggiormente presenti sui germogli (succhioni in particolare) della parte bassa delle piante e sulle foglie basali dei germogli (Schvester *et al.*, 1962a; Vidano, 1966; Lozzia, 1992; Cravedi *et al.*, 1993; Posenato *et al.*, 2001) (*fig. 3*); debbono pertanto essere campionate le foglie di succhioni posti alla base del fusto o, in mancanza di questi, quelle di germogli posti lungo i cordoni permanenti orizzontali delle viti (Posenato *et al.*, 2001). Nelle forme di allevamento a parete verticale, con vegetazione prossima al terreno, si possono campionare anche foglie di germogli posti vicino al suolo (Cravedi *et al.*, 1993).

Data la tendenza delle forme giovanili a spiccare salti quando la vegetazione viene toccata, è preferibile effettuare i campionamenti nelle prime ore del mattino, quando la cicalina è meno mobile (Bosio e Rossi, 2001). Inoltre, i campionamenti andrebbero evitati dopo piogge intense che fanno cadere a terra molti individui.

Le forme giovanili possono venir catturate anche con trappole cromotropiche gialle invischiate (Cravedi *et al.*, 1992; Jermini *et al.*, 1993).

#### *Monitoraggio degli adulti*

Il monitoraggio degli adulti ha due finalità:

- a) individuare la comparsa dei primi adulti;
- b) studiarne le variazioni quantitative nel tempo.

Gli adulti possono venir monitorati con campio-



**7. Tecnica dello "scuotimento manuale" per il monitoraggio di *S. titanus***

Foto F. Pavan



**8. Trappola cromotropica per il monitoraggio di *S. titanus* perpendicolare al terreno**

Foto F. Pavan

namenti delle foglie (Schvester *et al.*, 1962a), con mezzi meccanici (Osler *et al.*, 1975) e con trappole cromotropiche gialle invischiate (Pavan *et al.*, 1987).

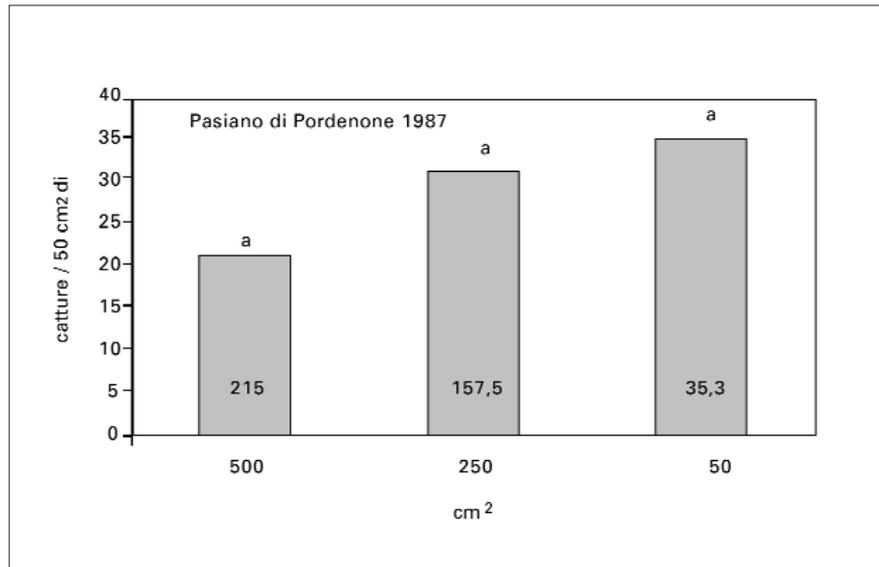
I campionamenti fogliari, per fornire un'informazione adeguata, richiedono l'osservazione di un numero troppo elevato di foglie, in quanto le densità di popolazioni degli adulti, anche nei vigneti poco o affatto trattati con insetticidi, sono spesso molto contenute (Pavan *et al.*, 1987).

I mezzi meccanici si basano o sullo scuotimento della vegetazione per far cadere gli insetti (tecniche dello "strumento scuotitore-raccoglitore" e dello "scuotimento manuale") o sullo sfalcio della stessa con retino entomologico. La tecnica dello "strumento scuotitore-raccoglitore" (*frappage*) utilizza un retino o ombrello entomologico che ha la funzione di raccogliere gli adulti caduti dopo aver percosso con un bastone imbottito la vegetazione sovrastante il retino stesso (Osler *et al.*, 1975; Rui *et al.*, 1987). La tecnica dello "scuotimento manuale", messa a punto in Friuli-Venezia Giulia e adatta a forme di allevamento quali il Sylvoz e il Casarsa, consiste nel posizionare un retino entomologico sotto un capo a frutto, che viene

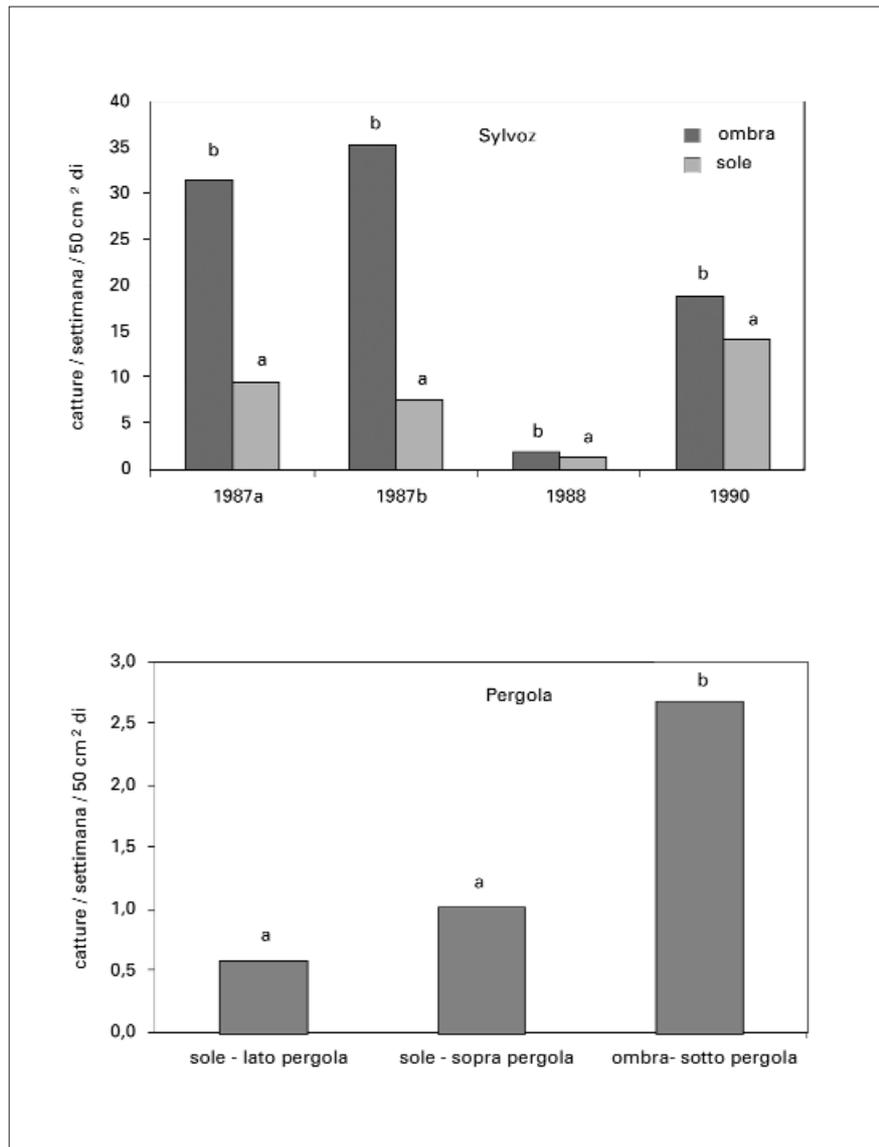
scosso energicamente (*foto 7*). La tecnica che si basa sull'utilizzo del "retino entomologico" prevede dei colpi sulla vegetazione, effettuati con lo stesso retino e diretti dal basso verso l'alto, e si adatta solo a forme di allevamento a parete verticale (Bosio *et al.*, 2001).

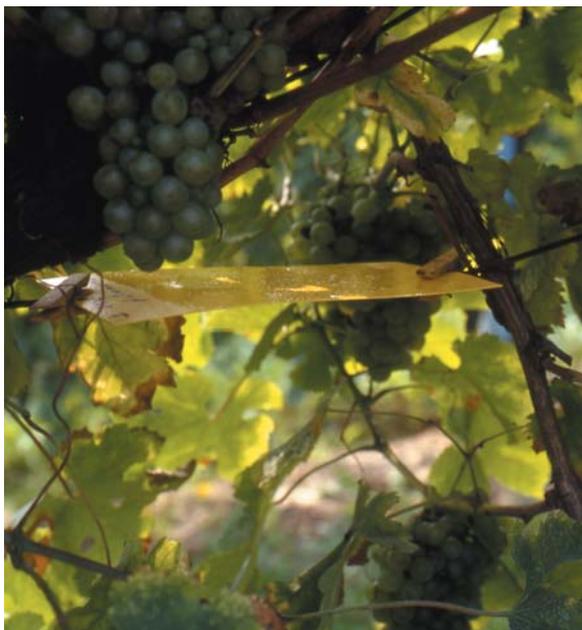
Le trappole cromotropiche utilizzate per il monitoraggio degli adulti di *S. titanus* sono costituite da pannelli rettangolari semplici, o doppi a formare una croce (tipo Rebell), ricoperti di colla su uno o entrambi i lati (*foto 8*). In sperimentazioni effettuate in Italia le catture sono risultate massime su trappole cromotropiche di colore giallo intenso (Pavan e Strapazzon, 1991); trappole di colori giallo più chiaro, blu, verde e rosso non hanno comunque mai determinato una riduzione delle catture superiore al 50%, mentre solo tendenzialmente più basse sono state le catture su trappole bianche e trasparenti. Differente attrattività di tre tipi di trappole gialle è stata osservata anche in Svizzera (Jermini *et al.*, 1992). Catture più elevate su trappole cromotropiche di color rosso rispetto a trappole gialle sono state osservate in altre sperimentazioni effettuate in Italia (Lessio

**Fig. 4 - Influenza della dimensione di trappole cromotropiche gialle invischiata sull'efficienza delle catture di adulti di *S. titanus* (trappole poste in mezzo alla vegetazione di viti allevate a Sylvoz). All'interno della colonna sono riportate le catture per trappola (media di 3 trappole per 8 campionamenti) [Pavan, dati non pubblicati]**



**Fig. 5 - Influenza della posizione della trappola rispetto alla vegetazione sulle catture di adulti di *S. titanus* in viti allevate a Sylvoz (parete verticale) e a pergola (parete orizzontale) [Pavan, dati non pubblicati] (ombra = trappole poste in mezzo alla vegetazione; sole = trappole poste di lato alla vegetazione e sempre esposte all'irraggiamento diretto del sole)**





**9. Trappola cromotropica per il monitoraggio di *S. titanus* parallela al terreno**

Foto F. Pavan



**10. Manicotto utilizzato per confinare le forme giovanili in viti allevate in vaso**

Foto A. Bressan

e Alma, 2004). Le trappole rosse utilizzate in quest'ultima prova erano caratterizzate da una riflettanza più simile alle più attrattive trappole gialle che non a quelle rosse utilizzate nelle prove riportate in Pavan e Strapazzon (1991). Tale fatto indicherebbe che per confrontare l'attrattività di trappole diverse è più importante fare riferimento alla riflettanza che al colore.

Le catture totali per trappola aumentano all'aumentare delle dimensioni delle trappole (fra 50 cm<sup>2</sup> e 500 cm<sup>2</sup>), anche se l'incremento è meno che proporzionale all'aumento della superficie (*fig. 4*). I giorni di permanenza in campo sono associati a una perdita di efficienza delle trappole (catture/giornaliere), anche se le riduzioni in un periodo compreso fra 1 e 2 settimane non sono mai superiori al 25% (Pavan, dati non pubblicati).

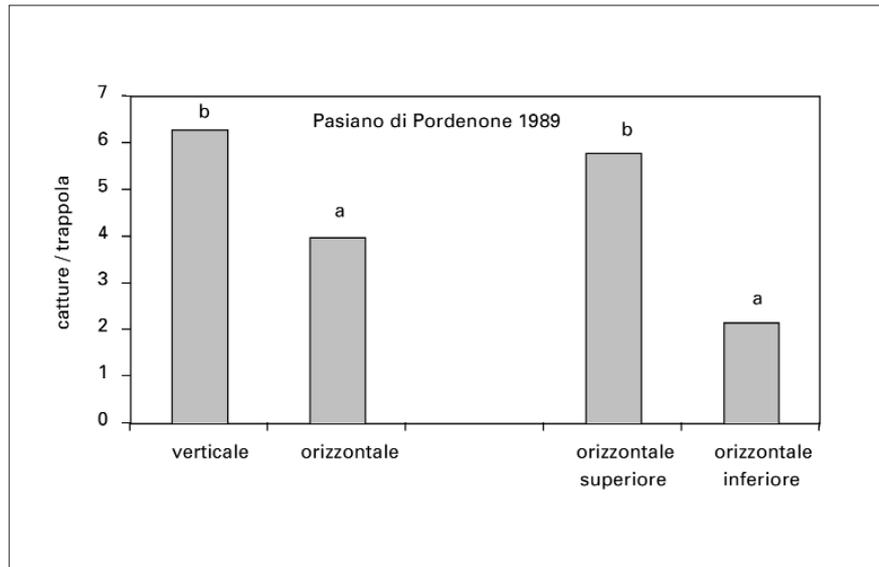
La posizione della trappola cromotropica rispetto alla vegetazione è in grado di influenzare l'entità delle catture. Le trappole poste fra la vegetazione (forme di allevamento a parete verticale) o sotto la stessa (forme di allevamento orizzontale), ancorché visibili dall'esterno, catturano significativamente di più rispetto a trappole completamente esposte all'irraggiamento diretto del sole (*fig. 5*). Anche l'orientamento delle trappole nello spazio può influire sull'entità delle catture. In Svizzera, su viti allevate a Guyot, trappole orizzontali (parallele al terreno) hanno catturato significativamente di più di trappole verticali (Jermini *et al.*, 1992), mentre in Italia, su viti allevate a Sylvoz, è stato

osservato il contrario (*fig. 6; foto 9*). L'apparente contraddizione fra i dati raccolti in Svizzera e in Italia dipende probabilmente dal fatto che nel primo caso, diversamente dal secondo, le trappole verticali non erano poste all'interno della vegetazione ed erano invisiate da un solo lato. Considerata la maggior facilità di installazione in campo, è in ogni caso preferibile mettere le trappole in posizione verticale.

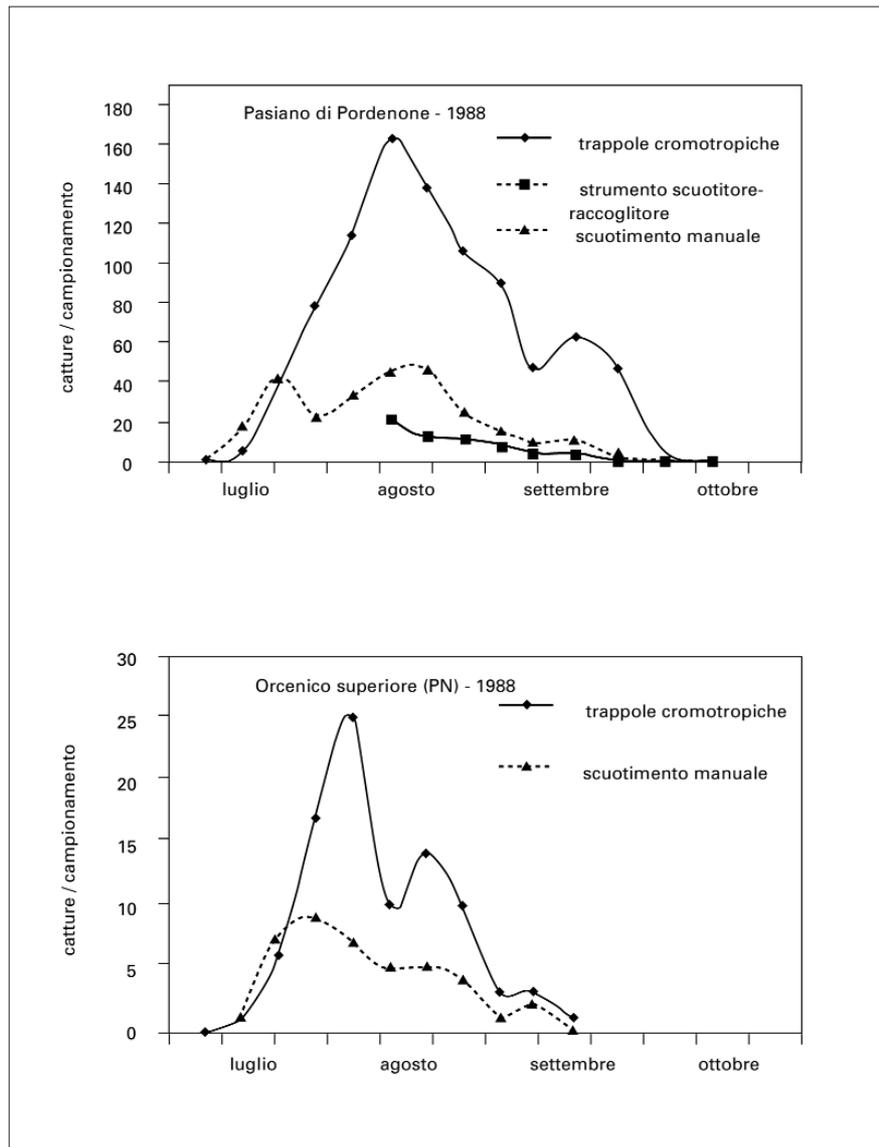
Non è opportuno utilizzare trappole preconfezionate e predisposte per monitorare piccoli insetti nelle serre (aleirodidi, tripidi, sciaridi), in quanto, essendo limitata la quantità di colla presente, gli adulti di *S. titanus* colpiscono la trappola, ma spesso non restano invischiati.

Nessuno dei metodi di monitoraggio degli adulti è il migliore in assoluto. Essi teoricamente non forniscono le stesse informazioni: i mezzi meccanici consentono di conoscere la densità di popolazione nel momento in cui viene effettuato il campionamento, mentre le trappole cromotropiche solo quando vengono sostituite e relativamente all'intero periodo in cui restano in campo. Perciò i metodi meccanici sono preferibili quando si vuole ottenere un'informazione puntuale sulla densità di popolazione, mentre le trappole cromotropiche hanno il vantaggio di permettere un monitoraggio continuo nel tempo. L'entità delle popolazioni stimata con le trappole cromotropiche – a parità di colore, dimensione e posizionamento – è con ogni probabilità maggiormente condizio-

**Fig. 6 - Influenza dell'orientamento nello spazio di trappole cromotropiche gialle invischiati (23 x 11,5 cm) sulle catture di adulti di *S. titanus* (trappole posizionate in mezzo alla vegetazione su viti allevate a Sylvoz) (verticale = perpendicolari al suolo; orizzontale = parallele al suolo; inferiore = lato rivolto verso il suolo; superiore = lato rivolto verso l'alto)**  
 [Pavan, dati non pubblicati]



**Fig. 7 - Confronto fra tre metodi di cattura degli adulti di *S. titanus* in viti allevate a parete verticale. Sono state confrontate le catture ottenute con tre trappole cromotropiche gialle di 250 cm<sup>2</sup> sostituite una volta alla settimana, con quelle conseguite in 10 minuti con due metodi meccanici**  
 [Pavan, dati non pubblicati]



**Tab. 2 - Sostanze attive (s.a.) utilizzabili nella lotta contro *Scaphoideus titanus* e loro effetti collaterali su altri fitofagi della vite e su alcuni nemici naturali**

Sostanze attive (s.a.)	<i>Scaphoideus titanus</i>			<i>Tignole della vite</i>	<i>Empoasca vitis</i>	<i>Metcalfa pruinosa</i>	<i>Cocciniglie</i>	<i>Nemici naturali</i>	
	<i>giovani</i>	<i>adulti</i>	<i>persistenza</i>					<i>fitoseidi</i>	<i>antocoridi</i>
	<i>eff.</i>	<i>eff.</i>		<i>eff.</i>	<i>eff.</i>	<i>eff.</i>	<i>eff.</i>	<i>toss.</i>	<i>toss.</i>
<b>NEUROTOSSICI DI SINTESI</b>									
<i>Fosfororganici</i>									
clorpirifos-metil	+++	+++	+	+++	+(*)	+++	+	++(**)	++
clorpirifos-etil	+++	+++	++	+++	++(*)	+++	++	++(**)	++
fenitrotion	+++	+++	++	+++	++(*)	+++	+	++(**)	++
malation	+++	+++	++	++(p)	++(*)	++		++(**)	++
<i>Carbammati°</i>									
carbaril	++	++	++	++	+		+	++	++
metomil	++	++	++	+++			+++	++	
<i>Piretroidi</i>									
acrinatrina, alfa-cipermetrina	+++	+++	+++	++(p)	+++	+++		+++	+++
bifentrin, lambda-cialotrina	+++	+++	+++	++(p)	+++	+++		+++	+++
zeta-cipermetrina	+++	+++	+++	++(p)	+++	+++		+++	+++
<i>Altri</i>									
etofenprox	+++	+++		+	+++	+++		+++	+++
indoxacarb	-/++	+/++	+	++(p)	++			-	+/-
tiametoxam	+++	+++	++		+++			+	
<b>REGOLATORI DI CRESCITA</b>									
buprofezin	+++	-	+++	-	+++	-	++(#)	+/-	+
flufenoxuron	++/+++	-	+++	++(p)	+++	+		++/-	++
<b>"BIOLOGICI"</b>									
piretrine naturali	++	++	-	-/+	+/++	+	+	+	
olio bianco	++	++	+			++	++	+	
piretrine naturali + olio bianco	+++	+++	+			+++		+	
rotenone	++	+	+	+	+/++			+	
azadiractina	-/+							-	
<p>LEGENDA</p> <p>+++ = efficacia (tossicità, persistenza) elevata</p> <p>++ = efficacia discreta</p> <p>+ = efficacia parziale</p> <p>- = efficacia nulla</p> <p>simbolo / simbolo = indicazioni contrastanti riportate in letteratura</p> <p>assenza di simboli = informazioni non disponibili nella letteratura a disposizione</p> <p>(p) = s.a. utilizzabili solo per la lotta preventiva.</p> <p>* = l'efficacia è nulla dove sono state selezionate popolazioni resistenti</p> <p>** = la tossicità è nulla in presenza di popolazioni resistenti</p> <p># = attività lenta</p> <p>° = s.a. in corso di revisione per la registrazione.</p>									

nata da fattori legati al comportamento dell'insetto, che può modificare nel tempo sia la sua attività di volo, sia il grado di risposta allo stimolo cromatico. La manualità dell'operatore può invece influenzare il numero di individui catturati quando vengono utilizzati i metodi meccanici. Le trappole cromotropiche forniscono un'informazione più efficiente (a parità di tempi di campionamento) dei mezzi meccanici (vedi *fig. 7* per i metodi che si basano sullo scuotimento; desumibile da Bosio *et al.*, 2001, per il "retino entomologico"). Lo "scuotimento manuale" è risultato comunque tendenzialmente più efficiente delle trappole cromotropiche all'inizio del volo, quando gli adulti sono ancora poco mobili (*fig. 7*). Il "retino entomologico", sempre in tale fase, ha addirittura catturato di più delle trappole cromotropiche (Bosio e Rossi, 2001), anche se in questo caso non sono stati considerati i tempi di campionamento.

#### *Sostanze attive utilizzabili*

Le sostanze attive efficaci contro *S. titanus* sono numerose (Carle e Schvester, 1964; Planas, 1987; Carraro e Pavan, 1988; Cazenave e Planas, 1991; Caobelli e Carcereri, 1995; Decoin, 1995; Charayron, 1997; Rousseau, 1997; Stefanelli e Villani, 1997; François *et al.*, 1999; Mori *et al.*, 1999b, 2004; Bassi *et al.*, 2000; Pavan e Stefanelli, 2000; Bosio *et al.*, 2001, 2004; Posenato *et al.*, 2001, 2002; Stefanelli *et al.*, 2002; Cravedi e Mazzoni, 2002; Girolami *et al.*, 2002; Bottura *et al.*, 2003; Mazzoni *et al.*, 2003; Caruso e Mazio, 2004; Mazio e Montermini, 2004; Mori, 2004).

Dal punto di vista pratico gli insetticidi possono essere raggruppati in:

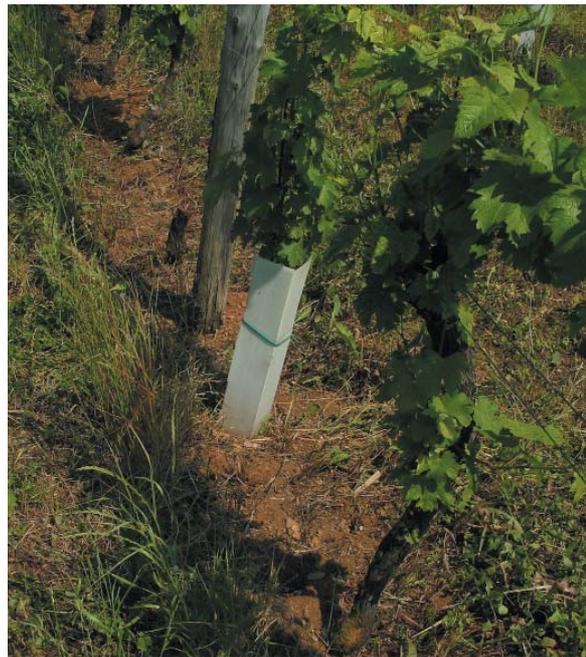
- a) prodotti neurotossici;
- b) prodotti regolatori di crescita (inibitori della biosintesi della chitina);
- c) prodotti "biologici", autorizzati anche nelle aziende a conduzione biologica (Reg. CEE 2092/91 e successive integrazioni) (*tab. 2*).

La scelta delle sostanze attive dovrà considerare il meccanismo di azione dell'insetticida impiegato, il costo del prodotto commerciale, la possibilità di controllare contemporaneamente altri fitofagi e la tossicità nei confronti dell'artropodofauna utile.

#### *Insetticidi di sintesi ad attività neurotossica*

Fra i prodotti neurotossici è possibile utilizzare fosfororganici, carbammati, piretroidi, etofenprox, indoxacarb e neonicotinoidi (tiametoxam).

I *fosfororganici* e i *carbammati* sono efficaci sia contro le forme giovanili sia contro gli adulti e sono caratterizzati da un forte potere abbattente. I



**11. Succhioni presenti lungo il cordone permanente verticale di una vite** Foto G. Bogot

formulati microincapsulati sono più persistenti di quelli tradizionali e quindi sono particolarmente adatti alla lotta contro gli adulti provenienti da vigneti non trattati (Posenato *et al.*, 2002). Due trattamenti effettuati con fosfororganici nel corso di una stagione vegetativa, in vigneti precedentemente non trattati con insetticidi, sono in grado di ridurre le popolazioni del vettore a livelli molto bassi (Posenato *et al.*, 2001).

I *piretroidi*, compreso l'affine *etofenprox*, sono efficaci sia contro le forme giovanili sia contro gli adulti e sono caratterizzati da elevati potere abbattente e persistenza. Se ne sconsiglia l'uso in vigneti destinati alla produzione di uva in quanto sono particolarmente tossici nei confronti degli acari fitoseidi e di altri predatori, e causano frequentemente pullulazioni indotte di acari tetranichidi (Duso e Pavan, 1986; Mori *et al.*, 1999b; Posenato *et al.*, 2001). Possono invece essere utilmente impiegati nei barbatellai, in quanto da una parte sono poco tossici nei confronti dell'uomo e dall'altra presentano caratteristiche tecniche, quali l'elevata persistenza, che li rendono particolarmente adatti alla lotta contro gli adulti migranti.

*Indoxacarb* è registrato per l'impiego contro *S. titanus* (Bassi *et al.*, 2000), ma il suo grado di attività è oggetto di discussione. In prove di pieno campo su viti allevate a spalliera l'efficacia è risultata nulla (Bosio *et al.*, 2004) o parziale (Mazzoni *et al.*, 2003); su viti allevate a pergola è invece risultata

discreta (dati non pubblicati). In prove effettuate in ambiente confinato (vedi § *Valutazione dell'efficacia dei trattamenti insetticidi...*), indoxacarb è risultato attivo sia contro le forme giovanili sia contro gli adulti, raggiungendo però livelli di efficacia e persistenza poco inferiori a quelli dei fosfororganici, solo quando l'insetticida è stato irrorato in presenza della cicalina (dati non pubblicati). Nell'ambito di vigneti allevati a spalliera e trattati due volte all'anno contro *S. titanus*, popolazioni significativamente più elevate della cicalina sono state osservate in quelli che nel primo dei due interventi hanno utilizzato indoxacarb in alternativa a un fosfororganico o a flufenoxuron (Pavan *et al.*, 2005). L'efficacia di indoxacarb è maggiore quando colpisce direttamente la cicalina, come risulta sia dai dati raccolti in ambiente confinato (insetticida più attivo se irrorato in presenza della cicalina), sia, indirettamente, da quelli di campo (maggiore facilità di irrorare la pagina inferiore delle foglie su pergola che su spalliera). Sulla base dei dati sperimentali sopra esposti è auspicabile utilizzare indoxacarb solo nei vigneti dove vengono effettuati due trattamenti insetticidi all'anno e limitatamente al primo intervento. Quest'ultimo, al fine di massimizzare l'efficacia dell'insetticida, andrà effettuato in anticipo rispetto all'epoca in cui vengono utilizzati gli altri prodotti neurotossici in modo da intervenire quando le forme giovanili della cicalina sono più suscettibili e la densità di vegetazione delle viti consente una buona bagnatura della pagina inferiore delle foglie.

I *neonicotinoidi*, quali imidacloprid (Posenato *et al.*, 2002; Mazio e Montermini, 2004) e tiametoxam (AGREA, dati non pubblicati), sono caratterizzati da un ottimo potere abbattente e da un'elevata persistenza. Solo la sostanza attiva tiametoxam è per il momento autorizzata su vite contro *S. titanus*.

#### *Regolatori di crescita di sintesi*

Fra i regolatori di crescita sono risultati efficaci due inibitori della biosintesi della chitina: *flufenoxuron* e *buprofezin*. La loro attività si esplica quasi esclusivamente contro le forme giovanili (Mori *et al.*, 1999b; Bosio *et al.*, 2001; Mazzoni *et al.*, 2003). L'efficacia dei due insetticidi è analoga nei confronti delle prime due età giovanili, mentre la terza età è meglio controllata da buprofezin rispetto a flufenoxuron (Cravedi e Mazzoni, 2002). La loro azione, quella di flufenoxuron in particolare, è lenta, in quanto essi manifestano un'efficacia che si avvicina a quella dei fosfororganici solo dopo circa due settimane dal trattamento (Stefanelli e Villani, 1997; Mori *et al.*, 1999b; Mazzoni *et al.*, 2003; Bosio *et al.*, 2004). Se si vogliono eliminare i primi individui della cicalina potenzialmente infet-

tivi (vedi § *Prove di efficacia contro le forme giovanili*), i due regolatori di crescita vanno quindi impiegati a non oltre 15-20 giorni dall'inizio della schiusura delle uova, quando le forme giovanili appartengono quasi tutte alle prime due età. Per lo stesso motivo non è consigliabile utilizzarli in vigneti infetti nel primo anno in cui vengono effettuati interventi insetticidi (Posenato *et al.*, 2001; Cravedi e Mazzoni, 2002; Bosio *et al.*, 2004). Flufenoxuron è risultato efficace anche quando impiegato in agosto-settembre contro le femmine ovideponenti, in quanto ha ridotto di quasi il 90% la presenza di neanidi nella primavera successiva (François *et al.*, 1999).

Flufenoxuron, utilizzato alla dose attualmente riportata in etichetta pari a 100 ml/hl, è risultato meno efficace di buprofezin in prove parcellari (Bosio *et al.*, 2004) e confrontando vigneti diversamente trattati (Bosio *et al.*, 2001; Mazzoni *et al.*, 2003), ma non in prove svolte confinando le forme giovanili su piante in vaso (Stefanelli e Villani, 1997). Flufenoxuron, quando utilizzato a 150 ml/hl per il controllo delle tignole della vite, non ha dato risultati sostanzialmente diversi da quelli di buprofezin né in prove parcellari (Mori *et al.*, 1999a), né confrontando vigneti diversamente trattati (Bosio *et al.*, 2001). La minore efficacia di flufenoxuron rispetto a buprofezin, oltre che dalla dose, potrebbe dipendere anche dalla sua minore attività contro le forme giovanili di età maggiore della seconda; opportuno è quindi il consiglio di impiegare questa sostanza attiva in anticipo rispetto a buprofezin (Cravedi e Mazzoni, 2002). In un'indagine triennale svolta in Friuli-Venezia Giulia in vigneti ove venivano effettuati due interventi all'anno contro *S. titanus*, la strategia basata sul doppio trattamento con fosfororganici e quella in cui il primo fosfororganico è stato sostituito da flufenoxuron hanno avuto gradi di efficacia non significativamente diversi nel contenimento delle popolazioni della cicalina (Pavan *et al.*, 2005).

Flufenoxuron e buprofezin non sempre sono caratterizzati da selettività nei confronti degli acari fitoseidi e sono risultati tossici nei confronti di insetti predatori quali gli antocoridi (Sterk *et al.*, 1999; Angeli *et al.*, 2000; Girolami *et al.*, 2002). Flufenoxuron, a differenza di buprofezin, è efficace anche contro le tignole della vite ed è in grado di controllare la seconda generazione delle stesse anche quando impiegato in prima epoca, in coincidenza con la prima generazione (Barbieri, 1997; Boselli *et al.*, 2000; Bressan *et al.*, 2002). Una maggiore incidenza di infestazioni da parte di cocciniglie è risultata spesso associata ad un uso ripetuto di flufenoxuron (Vari, comunicazioni personali), men-

tre buprofezin presenta una discreta efficacia, anche se lenta, nei confronti di *Planococcus* spp. (Bedford *et al.*, 1996) e di altre cocciniglie della vite (Pavan *et al.*, 1996; Stefanelli *et al.*, 2004).

#### *Insetticidi utilizzabili in agricoltura biologica*

Fra le sostanze attive utilizzabili in agricoltura biologica, le piretrine naturali hanno dato i migliori risultati, miscelate o meno con piperonil-butossido (Stefanelli *et al.*, 2002; Bottura *et al.*, 2003; Bosio *et al.*, 2004; Caruso e Mazio, 2004; Mori *et al.*, 2004). Esse sono caratterizzate da ottimo potere abbattente, ma praticamente possiedono persistenza nulla per cui richiedono un numero di trattamenti più elevato rispetto ai prodotti di sintesi e sono inefficaci nei confronti di adulti provenienti dall'esterno (Bottura *et al.*, 2003; Mori *et al.*, 2004).

Buona è l'attività dell'olio paraffinico che è tossico anche nei confronti di adulti che arrivano sulla vegetazione dopo il trattamento (Stefanelli *et al.*, 2002; Bottura *et al.*, 2003; Mori *et al.*, 2004). La sua efficacia risulta tendenzialmente migliore se viene attivato con piretrine naturali. Tale prodotto può dare problemi di fitotossicità se distribuito in miscela con zolfo.

Discreta, ma significativamente inferiore a quella delle piretrine naturali, risulta l'efficacia di rotenone (Bottura *et al.*, 2003; Mori *et al.*, 2004). Ottima contro le forme giovanili appare invece la miscela rotenone + piretrine naturali (Bottura *et al.*, 2003; Bosio *et al.*, 2004; Mori *et al.*, 2004).

Insetticidi a base di azadiractina hanno evidenziato un'efficacia nulla (Bosio *et al.*, 2004) o limitata (Bottura *et al.*, 2003; Caruso e Mazio, 2004).

#### *Modalità di esecuzione dei trattamenti*

Le modalità di esecuzione dei trattamenti sono di fondamentale importanza al fine di massimizzare l'efficacia.

Sulla base di indicazioni riportate in diversi lavori (Bosio *et al.*, 2001, 2004; Bottura *et al.*, 2003; Mori *et al.*, 2004) sono di seguito riassunti alcuni accorgimenti per rendere più efficaci i trattamenti:

- a) è indispensabile impiegare elevati volumi d'acqua in modo da bagnare bene la vegetazione, soprattutto quando si utilizzano piretrine naturali e indoxacarb che aumentano di molto la loro efficacia quando colpiscono direttamente la cicalina;
- b) gli ugelli dell'irroratrice devono essere orientati anche verso la parte inferiore delle piante, dove sono concentrate le forme giovanili;
- c) prima del trattamento è opportuno asportare tutti i succhioni basali a eccezione di quelli che

possono venire adeguatamente irrorati dalla miscela insetticida, in modo da favorire la concentrazione della maggioranza delle forme giovanili su questi ultimi (pratica utile soprattutto su viti allevate a parete orizzontale, quali la pergola, in quanto su queste i succhioni rappresentano l'unica vegetazione prossima al suolo);

- d) le piretrine naturali andrebbero distribuite la sera o con cielo coperto per limitare la degradazione da parte della componente ultravioletta della luce;
- e) quando si utilizzano piretrine naturali e rotenone è bene acidificare l'acqua in modo da ottenere un pH di 6-6,5;
- f) è preferibile non utilizzare gli insetticidi in miscela con anticrittogamici.

#### *Strategie di lotta insetticida*

Le strategie di lotta insetticida da adottare varieranno in relazione alle finalità produttive del vigneto e alla presenza e incidenza della malattia.

#### *Vigneti convenzionali per la produzione di uve da vino*

In tali vigneti l'obiettivo della lotta insetticida sarà quello di evitare danni economici. Le strategie di intervento varieranno in funzione della presenza e incidenza di flavescenza dorata.

• *A.1. Vigneti in cui FD non è ancora presente*  
Quando FD non è ancora presente, la convenienza economica di effettuare trattamenti preventivi risiede nell'evitare gravi epidemie qualora la malattia si insedi. Infatti, come già detto, le aree viticole maggiormente danneggiate da FD sono state quelle in cui la pressione insetticida era meno forte. Le aree viticole dove è conveniente attuare una lotta preventiva sono soprattutto quelle contigue ad aree già infette.

In tali aree, non essendoci ancora la necessità di intervenire precocemente per eliminare le prime forme giovanili potenzialmente infette, è sufficiente effettuare un unico trattamento insetticida all'anno. Qualora si utilizzino insetticidi neurotossici, il trattamento andrà effettuato verso la fine della schiusura delle uova del vettore in coincidenza con il trattamento contro la seconda generazione delle tignole della vite. Se si utilizzano buprofezin o flufenoxuron, questi andranno posizionati nel momento di maggiore efficacia che coincide con la massima presenza di forme giovanili delle prime due età (pre-fioritura o immediata post-fioritura). L'utilizzo di flufenoxuron in tale fase è anche garanzia di controllo della seconda genera-

zione delle tignole della vite (Barbieri, 1997; Boselli *et al.*, 2000; Bressan *et al.*, 2002).

Tale strategia preventiva, antieconomica nel breve periodo e con negativi effetti eco-tossicologici, ha dato ottimi risultati nel contenimento di FD; ad esempio, in Friuli-Venezia Giulia la malattia, nelle nuove aree in cui si è via via insediata, non ha mai causato danni di rilevanza economica nei vigneti che erano stati preventivamente trattati (Servizio Fitosanitario Regionale, dati non pubblicati). È comunque stato dimostrato che la lotta insetticida contro il vettore riduce in modo significativo l'incidenza della malattia in un vigneto anche quando viene iniziata nell'anno in cui vengono osservate le prime viti con sintomi (Posenato *et al.*, 2001).

• *A.2. Vigneti in cui FD è presente*

Dove la malattia è già insediata, i trattamenti hanno lo scopo di ridurre sia le nuove infezioni, sia le reinfezioni.

*Nei vigneti in cui l'incidenza della malattia è elevata e ci si trova nella fase epidemica* bisogna esercitare una forte pressione insetticida, in quanto il rischio di nuove infezioni è maggiore in presenza di molte viti infette che fungono da inoculo. In tali aree è necessario effettuare due interventi insetticidi all'anno posizionati contro le forme giovanili:

- il primo 15-30 giorni dopo l'inizio della schiusura delle uova;
- il secondo pochi giorni prima del previsto termine della schiusura delle uova, ovvero in coincidenza con la comparsa dei primi adulti, epoca che può coincidere con il trattamento contro la seconda generazione delle tignole della vite.

In tali vigneti un terzo trattamento è sicuramente antieconomico; in Veneto, infatti, due soli trattamenti insetticidi all'anno, ancorché posizionati sulla seconda e terza generazione delle tignole della vite, hanno avuto la stessa efficacia nel ridurre la percentuale di nuove piante ammalate di tre trattamenti primaverili-estivi posizionati secondo il ciclo di *S. titanus* (Posenato *et al.*, 1996b).

Il primo intervento può essere effettuato sia con inibitori della biosintesi della chitina (buprofezin e flufenoxuron), sia con insetticidi neurotossici. I due regolatori di crescita, flufenoxuron in particolare, andranno utilizzati precocemente, quando sono presenti soprattutto forme giovanili delle prime due età, cioè non oltre l'immediata post-floritura. I fosfororganici e gli altri neurotossici andranno impiegati alla comparsa della quarta età giovanile.

Per il secondo intervento è opportuno impiegare fosfororganici. È preferibile non utilizzare pire-

troidi, soprattutto nelle aree viticole in cui è presente un buon equilibrio fra acari tetranychidi (ragnetti) e acari predatori fitoseidi (Duso e Pavan, 1986; Mori *et al.*, 1999a; Posenato *et al.*, 2001). Sarà inoltre opportuno non effettuare su larga scala una pressione selettiva a base di un solo gruppo di sostanze attive per ridurre il rischio di selezionare popolazioni di fitofagi resistenti, come recentemente verificatosi nella zona del Soave, dove sono state osservate popolazioni di *Empoasca vitis* (Göthe) resistenti ai fosfororganici (Girolami *et al.*, 2001).

*Nei vigneti infetti in cui le nuove piante ammalate sono ormai poche* e le popolazioni del vettore sono basse, è possibile ridurre il numero di trattamenti insetticidi efficaci contro *S. titanus* a uno all'anno e in prospettiva adottare strategie di lotta integrata che prevedano interventi posizionati soprattutto in funzione del controllo delle tignole della vite (Girolami *et al.*, 2002). Naturalmente dovrà essere sempre monitorata attentamente la presenza di FD e di *S. titanus*, in modo da aumentare prontamente la pressione insetticida qualora necessario. Al fine di stabilire la pressione insetticida necessaria al contenimento di FD, potrebbe anche essere determinata una densità del vettore al di sotto della quale la probabilità di nuove infezioni è molto bassa, per cui ulteriori riduzioni delle popolazioni di *S. titanus* risultano inutili (Girolami, 2000).

*Vigneti per la produzione di materiale vivaistico*

Il vivaismo è responsabile della diffusione di FD a grandi distanze e per questo la normativa fitosanitaria ha imposto rigidi controlli su tale attività (Frausin *et al.*, 2000b).

Per ridurre i rischi di diffusione della malattia tramite innesto, nelle aree viticole ad attività vivaistica, oltre al monitoraggio sulla presenza della malattia, è stata esercitata, sin dalle prime segnalazioni di FD in Friuli-Venezia Giulia, un'elevata pressione di lotta insetticida contro il vettore (Frausin *et al.*, 2000b). Negli impianti collegati a tale attività (vigneti di piante madri e barbatellai) la lotta contro *S. titanus* deve mirare alla "eradicazione" dell'insetto, dovendosi evitare non solo la diffusione della malattia, ma anche il suo semplice instaurarsi. In tali vigneti è quindi necessario effettuare una forte pressione insetticida, soprattutto se questi si trovano in aree contigue a quelle già infette. In Veneto e Friuli-Venezia Giulia sono obbligatori tre interventi insetticidi (due contro le forme giovanili e uno adulticida). Quest'ultimo trattamento può coincidere con quello contro la terza generazione delle tignole della vite. Nei barbatellai i trattamenti possono venir

effettuati anche con piretroidi (vedi § *Insetticidi di sintesi ad attività neurotossica*).

*Vigneti per la produzione di uve biologiche e piccoli vigneti familiari*

Nei vigneti a conduzione biologica, come pure in piccoli vigneti vicini alle abitazioni, non è possibile (vigneti “biologici”) o non è auspicabile (vigneti “familiari”) utilizzare insetticidi organici di sintesi.

In tali vigneti le finalità della lotta insetticida sono analoghe a quelle dei vigneti convenzionali, ma i mezzi a disposizione sono più limitati. In pratica una buona efficacia è garantita solo dalle piretrine naturali, che sono però molto poco persistenti. L’attività insetticida può venir prolungata miscelando le piretrine naturali con olio bianco (vedi § *Sostanze attive utilizzabili*). Nell’ambito di strategie di lotta integrata, e per sopperire ai limiti della lotta insetticida, in tali vigneti debbono anche venir utilizzati al meglio i mezzi di lotta agronomica (vedi § *Lotta agronomica*).

*Valutazione dell’efficacia dei trattamenti insetticidi nel contenimento di S. titanus*

La valutazione dell’efficacia dei trattamenti insetticidi nei confronti di *S. titanus* presenta alcune difficoltà:

- a) *S. titanus*, se confrontato con altri fitofagi, non raggiunge popolazioni molto elevate e quindi non è sempre facile effettuare prove di pieno campo;
- b) nelle aree viticole interessate da FD è spesso difficile trovare vigneti non trattati con insetticidi;
- c) la cicalina ha una distribuzione molto aggregata: il coefficiente angolare delle “power law” di Taylor (1961) è risultato variare da 1,32 a 1,48, considerando gli adulti catturati per trappola cromotropica (Jermini *et al.*, 1993; Bosco *et al.*, 1997), e pari a 1,24 in relazione alle forme giovanili per foglia basale (Pavan, dati non pubblicati). Ciò implica la necessità di considerare un elevato numero di unità di campionamento, sia per avere una stima abbastanza precisa delle popolazioni sia perché eventuali differenze fra tesi a confronto risultino statisticamente significative.

*Prove di efficacia contro le forme giovanili*

Considerato che le forme giovanili presentano una mobilità notevolmente inferiore rispetto agli adulti, ove la densità di popolazione della cicalina è relativamente elevata, è possibile effettuare prove di pieno campo. Le prove andranno possibilmente impostate a blocchi randomizzati con quattro ripe-

tizioni. Considerata la relativa mobilità delle forme giovanili, le parcelle dovranno essere sufficientemente ampie (per esempio, 3 filari e 14 piante per filare, Mazzoni *et al.*, 2003) e i campionamenti interessare le piante centrali di ogni parcella. Le forme giovanili andranno osservate nella zona della pianta più infestata che consente una stima più efficiente delle popolazioni (Karandinos, 1976). Quando possibile, i campionamenti andranno pertanto effettuati sui succhioni posti alla base delle viti (Bosio *et al.*, 2001; Posenato *et al.*, 2001; *fig. 3*). In assenza di succhioni, e soprattutto da fine giugno, si dovranno campionare i germogli posti alla base dei capi a frutto. Nelle prove riportate in letteratura in alcuni casi l’unità di campionamento era costituita dal germoglio tal quale (Mori *et al.*, 1999b; Posenato *et al.*, 2001), mentre in altri casi da una foglia basale per germoglio (Carraro e Pavan, 1988; Bosio *et al.*, 2001, 2004; Mazzoni *et al.*, 2003). I campionamenti, per stimare la densità di popolazione della cicalina, andranno effettuati immediatamente prima del trattamento (T+0) e in più momenti successivi (per esempio, T+1, T+7, T+15, T+30 = 1, 7, 15, 30 giorni dopo il trattamento) in modo da valutare il potere abbattente, la rapidità di azione e la persistenza dei prodotti a confronto (Mori *et al.*, 1999b; Bottura *et al.*, 2003) (*fig. 3*).

Quando la densità delle popolazioni in campo è bassa si possono confinare le forme giovanili, mediante manicotti di rete a tenuta di insetto posti sopra germogli di viti allevate in vaso sotto *screenhouse* e precedentemente trattate con insetticidi (Stefanelli e Villani, 1997; *foto 10*). I manicotti devono essere di forma cilindrica sia per evitare che le forme giovanili muoiano imprigionate fra le pieghe sia per agevolare i campionamenti. Per confrontare correttamente l’attività dei diversi insetticidi, le forme giovanili poste all’interno dei manicotti debbono essere coetanee. Prove di questo tipo consentono di valutare non solo l’efficacia delle sostanze attive sulle diverse età giovanili, ma anche la loro persistenza, confinando le forme giovanili (almeno 10 per manicotto) sulle piante in momenti via via successivi al trattamento. Per valutare l’importanza di irrorare direttamente gli insetti, le forme mobili possono venir inserite all’interno del manicotto prima del trattamento. I campionamenti per stimare la mortalità andranno effettuati in più momenti successivi al trattamento (per esempio, dopo 1, 3, 7, 15 giorni). Dovranno essere previste quattro ripetizioni per tesi e ognuno dei manicotti appartenenti alla stessa tesi dovrà preferibilmente essere posto su quattro piante diverse

trattate le une indipendentemente dalle altre. Ad ogni campionamento verranno contati gli individui vivi e quindi stimata la mortalità.

#### *Prove di efficacia contro gli adulti*

La valutazione dell'attività di un insetticida nei confronti degli adulti di *S. titanus* risulta difficile in prove parcellari di pieno campo, oltre che per i motivi precedenti, anche a causa dell'elevata mobilità degli adulti che possono ricolonizzare rapidamente le parcelle trattate.

Per tale motivo è stato messo a punto un metodo sperimentale che prevede il confinamento degli adulti o in campo su germogli di vite, mediante manicotti di tulle (Stefanelli *et al.*, 1994; Posenato *et al.*, 2002), o sotto *screenhouse* su viti allevate in vaso, mediante manicotti di rete a tenuta d'insetto (Bottura *et al.*, 2003; Posenato *et al.*, 2002; Mori *et al.*, 2004). Gli adulti possono venir confinati sulle viti sia prima, sia dopo il trattamento, non appena la vegetazione si è asciugata, per valutare l'importanza di irrorare o meno gli insetti (Mori *et al.*, 2004). Tali metodi possono consentire di mettere in luce non solo il potere abbattente e la persistenza di un insetticida, ma anche la sua eventuale repellenza (Stefanelli *et al.*, 1994). Tale caratteristica è positiva se si considera l'effetto su adulti che arrivano dall'esterno, ma potrebbe essere negativa in relazione agli adulti già presenti nei vigneti che, indotti in un primo momento a portarsi sulla vegetazione circostante per sfuggire all'attività dell'insetticida, successivamente ricolonizzerebbero le viti. È noto, infatti, che *S. titanus* può nutrirsi e sopravvivere per brevi periodi su molte piante legnose presenti nella vegetazione che circonda i vigneti (Schvester *et al.*, 1962a).

#### *Confronto fra vigneti diversamente trattati*

L'efficacia di diverse strategie (tipo e numero di trattamenti) può venir valutata anche confrontando gruppi di vigneti omogenei (numero di anni da cui si tratta, numero di trattamenti per anno, sostanze attive utilizzate) (Bosio *et al.*, 2001; Mazzoni *et al.*, 2003; Pavan *et al.*, 2005).

Per valutare l'efficacia dei trattamenti effettuati in prima epoca (inizio giugno) con le diverse sostanze attive, bisogna stimare la densità di popolazione delle forme giovanili effettuando un campionamento prima del trattamento e uno dopo 2-3 settimane (Bosio *et al.*, 2001). Il confronto sarà fatto sulla riduzione percentuale delle popolazioni delle forme giovanili. Tali campionamenti risultano poco utili quando le popolazioni sono molto basse (per esempio, vigneti trattati da più anni).

Per confrontare l'efficacia di diverse strategie di lotta (numero di trattamenti all'anno e sostanze attive diverse) è possibile stimare le popolazioni degli adulti con trappole cromotropiche o con retino entomologico (Bosio *et al.*, 2001). Per quanto esposto in precedenza sul monitoraggio degli adulti, è più pratico ed efficiente utilizzare trappole cromotropiche. Sarebbe ottimale installare le trappole all'inizio dei voli e sostituirle a cadenza settimanale per tutto il periodo di volo, ma un buon compromesso, al fine di ridurre i costi, è quello di installare le trappole una sola volta nel periodo di massima cattura degli adulti (ultima decade di luglio-seconda di agosto) (Pavan *et al.*, 2005).

#### *Valutazione dell'efficacia di trattamenti insetticidi nel contenimento di FD*

Lo scopo principale della lotta è il contenimento di FD tramite l'abbattimento delle popolazioni del vettore. L'efficacia dei trattamenti nel contenimento della malattia si valuta confrontando l'andamento di FD in vigneti diversamente trattati (numero e tipo di interventi) (Posenato *et al.*, 1996b; Belli *et al.*, 1997).

Volendo seguire i criteri della lotta integrata e guidata è opportuno non solo valutare l'efficacia, ma anche la convenienza economica dei trattamenti che dipenderà dal costo della lotta e dagli incrementi in termini di Produzione Lorda Vendibile.

#### *LOTTA AGRONOMICA*

La lotta agronomica rappresenta non tanto un'alternativa alla lotta chimica, quanto un mezzo che si deve aggiungere al primo nell'ambito di strategie di difesa integrata. In quanto privo di effetti collaterali negativi di tipo eco-tossicologico, tale mezzo di controllo va incentivato.

#### *Eliminazione dei tralci con *S. titanus* svernante*

*S. titanus* sverna come uovo quasi esclusivamente sul legno di due anni (Schvester *et al.*, 1962a; Vidano, 1964), che viene in buona parte asportato durante la potatura secca. Se il legno di potatura viene lasciato in campo le uova schiudono e le forme giovanili possono, grazie alla loro mobilità, colonizzare le viti a partire dalle foglie più vicine al suolo e, in particolare, da quelle dei succhioni presenti nella parte bassa del cordone verticale permanente delle viti. Se il legno viene allontanato dal vigneto è evidente che le potenziali popolazioni

della cicalina vengono drasticamente ridotte (Carle e Schvester, 1964). L'adozione di tale pratica è più importante nei vigneti dove la lotta insetticida non può essere ottimale, come in quelli delle aziende a conduzione biologica (Rousseau, 1997).

#### *Eliminazione dei succhioni*

Nel periodo primaverile-estivo, come detto precedentemente, le forme giovanili di *S. titanus* presentano le densità più elevate sui succhioni posti nelle parti basse delle piante (foto 7). Tale distribuzione spaziale non dipende dai siti di svernamento della cicalina, in quanto solo raramente le femmine per deporre le uova utilizzano legno di età superiore ai due anni (Schvester *et al.*, 1962a; Vidano, 1964), ma dal fatto che le forme giovanili cadute a terra ricolonizzano le viti a partire dai succhioni basali o dai germogli prossimi al terreno (Lozzia, 1992; Cravedi *et al.*, 1993; Posenato *et al.*, 2001; Bosio *et al.*, 2001). La tendenza delle forme giovanili a spiccare salti, se disturbate, cadendo verso il basso, è evidente quando si tocca una foglia o un germoglio infestato e quando si usano metodi di monitoraggio quali lo strumento "scuotitore-raccogliatore". L'azione meccanica del vento o della pioggia, ma anche il rimescolamento della vegetazione causato dai trattamenti antiparassitari, potrebbero essere fattori che favoriscono la caduta a terra delle forme giovanili.

La scacchiatura ripetuta dei fusti, impedendo una facile colonizzazione delle viti da parte delle forme giovanili, si ritiene possa contribuire alla riduzione delle popolazioni della cicalina (Rousseau, 1997). Bisogna comunque tenere presente che, oltre ai succhioni, anche i germogli portati da rami di un anno possono essere colonizzati dalle forme giovanili cadute a terra se sono prossimi al terreno. La scacchiatura potrebbe essere più efficace se effettuata in coincidenza con l'inizio della schiusura delle uova, in quanto le prime età giovanili da una parte sono più vulnerabili e dall'altra hanno maggior difficoltà a colonizzare i germogli portati da rami di un anno, essendo questi ancora distanti dal terreno. Sulle forme di allevamento a parete orizzontale (per esempio, pergola) la colonizzazione delle viti sarà più difficile, essendo la vegetazione più distante dal livello del terreno (Bottura *et al.*, 2003). Bisogna comunque tener presente che le forme giovanili di *S. titanus* sono in grado di sopravvivere nutrendosi per lunghi periodi su diverse piante erbacee (Caudwell *et al.*, 1970) e pertanto, una volta cadute a terra, non necessitano dell'immediata disponibilità di foglie di vite.

#### *Eliminazione dei vigneti abbandonati e delle viti inselvaticite*

I vigneti abbandonati e le viti inselvaticite (generalmente viti americane derivanti da ricacci di portinnesti) non vengono trattati con insetticidi e possono ospitare popolazioni più o meno elevate del vettore (Schvester *et al.*, 1962a; Carle e Schvester, 1964; Vidano, 1964). Queste ultime possono sia ricolonizzare i vigneti trattati, sia infettarne le viti. È opportuno ricordare che possono essere infetti non solo le viti europee presenti nei vigneti abbandonati, ma anche i portinnesti inselvaticiti sintomatici o meno (Moutous, 1977; Caudwell *et al.*, 1994).

La pericolosità di tali viti è tanto più elevata quanto più sono vicine ai vigneti trattati con insetticidi. In Francia, proprio per tali motivi, è stata sin dall'inizio resa obbligatoria l'eliminazione dei vigneti abbandonati e delle viti inselvaticite (Carle e Schvester, 1964; Planas, 1987).

Recenti indagini effettuate in Italia hanno comunque messo in luce che i vigneti di vite europea abbandonati e le viti inselvaticite ospitano normalmente popolazioni di *S. titanus* molto inferiori a quelle dei vigneti di vite europea coltivati, ma non trattati con insetticidi (Mori, 2004; Pavan *et al.*, 2005).

#### *Estirpo delle viti sintomatiche*

Poiché, a parità di densità delle popolazioni di *S. titanus*, la probabilità di avere nuove piante ammalate dipende dalla proporzione di individui infetti e questa, a sua volta, dalla percentuale di viti ammalate (inoculo) (Bressan *et al.*, 2003), l'efficacia di un trattamento insetticida nel ridurre l'incidenza di un trattamento insetticida nel ridurre l'incidenza di FD dovrebbe aumentare se vengono estirpate le viti sintomatiche (Schvester, 1969). L'estirpo delle viti infette, al primo manifestare dei sintomi, potrebbe ridurre la percentuale di vettori infetti che possono trasmettere il fitoplasma già nel corso della stessa annata. Normalmente però l'estirpo delle viti viene effettuato durante il riposo vegetativo, allo scopo di ridurre l'inoculo nell'annata successiva.

La convenienza di estirpare le viti deve comunque tener conto della possibilità che le viti risanino (Girolami, 2000; Osler *et al.*, 2002). L'utilità di tale pratica è infatti tanto minore quanto più le viti risanano. Nelle viti diventate asintomatiche non viene più rilevato il fitoplasma (Osler *et al.*, 2002) e le forme giovanili che si nutrono su esse non risultano infettive (Schvester *et al.*, 1969).

#### LOTTA BIOLOGICA CONTRO IL VETTORE

Come per altri fitofagi esotici, introdotti in tempi relativamente recenti nel nostro Paese, anche per *S. titanus* il controllo biologico naturale da parte di entomofagi indigeni è limitato e sicuramente non sufficiente a mantenere la popolazione del vettore a livelli non dannosi.

Entomofagi indigeni (imenotteri mimaridi e driinidi, ma anche ragni e insetti predatori) si sono comunque adattati a *S. titanus* (Schvester *et al.*, 1962b; Carle, 1965; Alma e Arzone, 1994; Arzone e Alma, 1994; Rousseau, 1997; Malausa *et al.*, 2003).

Sono state anche ipotizzate strategie di lotta biologica con rilasci inondativi di imenotteri mimaridi indigeni (Sutre e Fos, 1997).

Recentemente sono stati individuati nel Nord America e importati in Francia numerosi parassitoidi di *S. titanus* (imenotteri driinidi, ditteri pipunculidi e imenotteri oofagi), che sono oggetto di studio in ambiente confinato prima della loro liberazione in campo (Malausa *et al.*, 2003).

Dal punto di vista pratico, sempre che questi entomofagi vengano liberati e riescano ad affermarsi, sarà comunque importante verificare se i nuovi equilibri biologici determineranno densità di popolazione di *S. titanus* economicamente non dannose. Il fatto che nelle aree in cui sono stati raccolti i parassitoidi le popolazioni della cicalina hanno basse densità, autorizza un moderato ottimismo.

## 7.5 Conclusioni e prospettive

Ruggero Osler

La flavescenza dorata (FD) della vite è giustamente ritenuta la malattia più grave e preoccupante fra quelle che rientrano nel gruppo dei giallumi della vite (GY) causati da fitoplasmii. Infatti, come è stato riferito, FD è fortemente epidemica, può essere distruttiva per la vite e la sua produzione e può colpire moltissime varietà, forse tutte quelle più coltivate. È di recente introduzione in Europa (anni cinquanta in Francia) e pertanto non sussistono fenomeni di selezione e di adattamento patogeno/ospite vegetale. Anche il vettore è di origine neartica e non si conoscono ancora, in Europa, suoi competitori efficaci. FD e il suo vettore sono presenti nel Nord Italia, Toscana inclusa, ma è in atto una progressione spaziale di entrambi, in nuove zone.

Fin dagli anni cinquanta, ma soprattutto dopo il 1980, le ricerche su questa malattia sono state fortemente incentivate, sia a livello internazionale, che

nazionale, che regionale. L'eziologia di FD è certa e ampie sono le informazioni sulle caratteristiche del fitoplasma causale, incluse quelle genetiche. Anche la diagnosi di FD è certa e precisa, specialmente quella molecolare (ormai applicata di routine).

Buone sono le conoscenze sull'ecologia del vettore e anche sulle caratteristiche della trasmissione del fitoplasma nonché sulla relazioni fondamentali patogeno/pianta ospite.

È nota la difficoltà della trasmissione di FD attraverso l'innesto al tavolo; si conosce la lunghezza media del periodo di incubazione della malattia in vite. Di conseguenza – traspare con evidenza anche dal presente elaborato – si conoscono sufficientemente l'epidemiologia della malattia e i suoi parametri fondamentali. Sono state svolte esperienze e osservazioni anche sulla termoterapia e sul fenomeno del "recovery".

Per quanto concerne la possibilità di difesa, sembra corretto affermare che innumerevoli sono gli esempi ove la malattia è stata frenata nella sua diffusione (in Italia e all'estero) in seguito all'adozione di strategie e di interventi idonei (specialmente mirati alla lotta al vettore, e alla distruzione delle viti infette). Non si può sottacere che in altri casi gli interventi sono stati tardivi e la malattia è sfuggita al controllo.

Attualmente, le conoscenze acquisite sulla malattia e le esperienze maturate nell'ambito della prevenzione, consentono di affermare che FD, se monitorata adeguatamente e fronteggiata per tempo, non deve essere più un problema grave. Lo si sta dimostrando in Friuli-Venezia Giulia e in Trentino: in entrambi i casi, FD si è affacciata nei rispettivi territori con notevole ritardo rispetto ad altre regioni, anche confinanti; è stato, pertanto, possibile fronteggiare la malattia fin dall'inizio, evitando, finora, rilevanti epidemie. A commento di questi risultati, si vuole ribadire l'importanza, fondamentale, dell'organizzazione generale dei programmi di intervento: questi devono coinvolgere Enti pubblici, Istituti scientifici e tecnici, Consorzi e Cooperative di produttori.

In ambito nazionale si sta riscontrando una sensibile diminuzione nella frequenza della malattia, proprio nelle regioni che avevano subito i danni maggiori negli anni novanta.

È comunque vero che si tratta di una malattia epidemica; che permangono forme di pericolose epidemie laddove si sono esaurite le epidemie; nuove epidemie possono nascere dall'arrivo (incontrollato) di vettori; differenti biotipi – patotipi – genotipi di FD possono riavviare epidemie anche in zone precedentemente già infette.

Nuove infezioni, anche a distanze ragguardevoli, possono essere innescate attraverso l'introduzione di materiale vegetale infetto. Da qui l'importanza dell'adozione di severe misure per la produzione di barbatelle. Ma gli scoppi epidemici sono da attribuire all'attività dei vettori locali.

Secondo un parere abbastanza condiviso nella comunità scientifica, oggi si dispone di conoscenze, di mezzi e di tecniche che dovrebbero essere idonei a evitare situazioni della gravità registrata in passato, purché non si abbassi eccessivamente la guardia.

Si è detto che si tratta di una malattia complessa. Per quanto concerne l'eziologia, recenti studi basati sui geni ribosomici, hanno messo in rilievo la presenza di genotipi diversi di FD, in zone diverse e in periodi diversi. Non si conosce ancora la rilevanza pratica di questi biotipi di FD e il loro

impatto sull'epidemiologia della malattia.

Ma anche altri aspetti fondamentali della fitopatologia restano ancora da approfondire, come:

- il "recovery";
- i fattori precisi che influenzano la genesi ma soprattutto l'estinzione delle epidemie;
- i rapporti patogeno/cicalina vettore;
- i rapporti patogeno/pianta ospite;
- l'influenza di endofiti su FD;
- la possibilità di fenomeni di "resistenze acquisite sistemiche" (SAR) in viti infette;
- la resistenza/tolleranza di genotipi di viti a FD.

Tutto questo suggerisce che si deve insistere nella ricerca su questa malattia, possibilmente attraverso progetti nazionali, coordinati, a continuazione di quello del Ministero per le Politiche Agricole e Forestali, attualmente in corso.

## Bibliografia

- AHRENS U., SEEMÜLLER E. (1992) - *Detection of plant pathogenic mycoplasma-like organism by a Polymerase chain reaction that amplifies a sequence of the 16S rRNA gene*. *Phytopathology*, 82: 828-832.
- ALMA A., ARZONE A. (1994) - *Adattamento di Driinidi paleartici al Cicadellide neartico Scaphoideus titanus Ball (Auchenorrhyncha Cicadellidae)*. In: Atti Conv. "Lotta biologica" [Acireale (CT), 28 novembre 1991], pp. 83-87.
- ANGELI G., FORTI D., MAINES R. (2000) - *Side-effects of eleven insect growth regulators on the predator bug Orius laevigatus Fieber (Heteroptera: Anthracoridae)*. *Bulletin OILB/SROP*, 23 (9): 85-92.
- ANGELINI E., CLAIR D., BORGIO 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: 79-86.
- ANGELINI E., NEGRISOLO E., CLAIR D., BORGIO M., BOUDON-PADIEU E. (2003a) - *Phylogenetic relationships among Flavescence dorée strains and related phytoplasmas determined by heteroduplex mobility assay and sequence of ribosomal and non ribosomal DNA*. *Plant Pathol.*, 52: 663-672.
- ANGELINI E., SQUIZZATO F., LUCCHETTA G., BORGIO M. (2003b) - *Identification of a grapevine Flavescence dorée-C phytoplasma and two deletion mutants in Clematis*. In: Proc. 14<sup>th</sup> Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICVG) [Locorotondo (BA-Italy), September 12-17, 2003], pp. 60-61.
- ANGELINI E., SQUIZZATO F., LUCCHETTA G., BORGIO M. (2004) - *Detection of a phytoplasma associated with grapevine Flavescence dorée in Clematis vitalba*. *Europ. J. Plant Pathol.*, 110: 193-201.
- ARZONE A., ALMA A. (1994) - *Indagini su parassitoidi oofagi di Scaphoideus titanus Ball (Auchenorrhyncha Cicadellidae)*. In: Atti Conv. "Lotta biologica", [Acireale (CT), 28 novembre 1991], pp. 83-87.
- BAGARD A. (1987) - *La flavescence dorée dans le vignoble corse*. In: Atti Conv. Int. "La Flavescenza dorata della vite" [Vicenza-Verona, 28-29 maggio 1987], pp. 69-90.
- BAKER K.F. (1962) - *Thermotherapy of planting material*. *Phytopathology*, 52: 1244-1255.

- BARBA M., BOCCARDO G., CARRARO L., DEL SERRONE P., ERMACORA P., FIRRAO G., GIUNCHEDI L., LOI N., MALFITANO M., MARCONE C., MARZACHÌ C., MUSETTI R., OSLER R., PALMANO S., POGGI POLLINI C., RAGOZZINO A. (1998) - *Confronto di differenti tecniche di diagnosi applicate al rilevamento di fitoplasmi in Pomacee*. Notiziario sulla protezione delle piante, 9: 263-278.
- BARBIERI R. (1997) - *Nuova strategia di difesa contro la tignoletta della vite*. Inf. agrario, 53 (25): 71-74.
- BASSI A., SANDRONI D., MASSASSO W., CONSOLO D., TURCHIARELLI V., ALBER R., LODI G. (2000) - *DPX-MPO62 (Steward (R)) un nuovo strumento di controllo di tignoletta della vite (Lobesia botrana). Risultati sperimentali 1994-99*. In: Atti Giornate Fitopatologiche 2000, vol. 1, pp. 467-472.
- BATTLE A., ANGELES MARTINEZ M., LAVINA A. (2000) - *Occurrence, distribution and epidemiology of Grapevine yellows in Spain*. Europ. J. Plant Pathol., 106: 811-816.
- BAZZI C., STEFANI E., GOZZI R., BURR T.J., MOORE C.L., ANACLERIO F. (1991) - *Hot-water treatment of dormant grape cuttings: Its effects on Agrobacterium tumefaciens and on grafting and growth of vine*. Vitis, 30: 177-187.
- BEDFORD I.D., KELLY A., MARKHAM P.G. (1996) - *The effects of buprofezin against the citrus mealybug Planococcus citri*. In: Proc. "Crop Protection Conferences: Pests & Diseases", [Brighton (UK), 18-21 november 1996], vol. 3, pp. 1065-1070.
- BELLI G., FORTUSINI A., OSLER R., AMICI A. (1973) - *Presenza di una malattia del tipo "flavescenza dorée" in vigneti dell'Oltrepò pavese*. Riv. Patol. Veget., Ser. IV, 9 (suppl.): 51-56.
- 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: 23-27.
- BELLI G., CREDI R., REFATTI E. (1994) - *Recenti sviluppi nelle conoscenze sulla flavescenza dorata e altri giallumi della vite*. In: Atti Giornate Fitopatologiche 1994, vol. 2, pp. 295-306.
- BELLI G., FORTUSINI A., BIANCO P.A., TORRESIN G., CARRARO S., PIZZOLI L. (1997) - *Flavescenza dorata e altri giallumi della vite*. Inf. agrario, 53 (19): 69-73.
- BELLOTTO D. (2004) - *Indagine conoscitiva sull'incidenza della flavescenza dorata e altri giallumi da fitoplasmi nell'area DOC Piave*. In: *Interventi per il contenimento della flavescenza dorata della vite nel Veneto. Attività 2003*. Regione Veneto-Unione Vini Veneti DOC, pp. 43-59.
- BERTACCINI A. (2002) - *Il punto sull'epidemia di flavescenza dorata in Italia*. Inf. agrario, 58 (15): 97-98.
- BERTACCINI A., MURARI E., VIBIO M., DANIELLI A., DAVIS R.E., BORGIO M., CONSOLARO R., SANCASSANI G.P. (1996) - *Identificazione molecolare dei fitoplasmi in viti affette da giallumi nel Veneto*. Inf. agrario, 52 (20): 55-59.
- BERTACCINI A., BORGIO M., BERTOTTO L., BONETTI A., BOTTI S., SARTORI S., PONDRELLI M., MURARI E. (2001) - *Termoterapia e chemioterapia per eliminare i fitoplasmi da materiali di moltiplicazione della vite*. Inf. agrario, 57 (42): 137-144.
- BIANCO P.A., DAVIS R.E., PRINCE J.P., LEE I.-M., GUNDERSEN D.E., FORTUSINI A., BELLI G. (1993) - *Double and single infections by Aster yellows and Elm yellows MLOs in grapevines with symptoms characteristic of Flavescence dorée*. Riv. Pat. Veg., Ser. V, 3: 69-82.
- BIANCO P.A., CASATI P., DAVIS R.E., FORTUSINI A. (1996) - *Prevalence of Aster yellows (AY) and Elm yellows (EY) group phytoplasmas in symptomatic grapevines in three areas of northern Italy*. Vitis, 35 (4): 195-199.
- BIANCO P.A., FORTUSINI A., SCATTINI G., CASATI P., CARRARO S., TORRESIN G.C. (2000) - *Prove di risanamento di materiale viticolo affetto da flavescenza dorata mediante termoterapia*. Inf. fitopat., 50 (4): 43-49.
- BIANCO P.A., ALMA A., CASATI P., SCATTINI G., ARZONE A. (2001) - *Transmission of 16SrV phytoplasmas by Scaphoideus titanus Ball in northern Italy*. Plant Protection Science, 37 (2): 49-56.
- BIANCO P.A., CASATI P., MARZILIANO N., BELLI G. (2002) - *Detection of phytoplasmas associated to Grapevine flavescence dorée disease by a specific 5' nuclease assay (TaqMan®)*. In: Proc. 14<sup>th</sup> IOM Congress [Vienna, July 7-12, 2002], IOM Letters 8, p. 209.
- BIANCO P.A., FROSINI A., CASATI P., DE BELLIS G. (2003) - *Identification of phytoplasmas infecting grapevine by ligase detection reaction and universal array*. In: Proc. 14<sup>th</sup> Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICVG) [Locorotondo (BA-Italy), September 12-17, 2003], p. 55.
- BIANCO P.A., CASATI P., MARZIGLIANO N. (2004) - *Detection of phytoplasmas associated with Grapevine flavescence dorée disease using real-time PCR*. J. Plant Pathol., 86 (3): 257-261.
- BOARINO A., LORIA A., D'AQUILIO M., VERATTI F., ZARA G., MARZACHÌ C. (2001) - *Quick and reliable methods for the diagnosis of phytoplasmas in grapevine*. In: Atti V Congresso nazionale Biotecnologie [L'Aquila, 13-15 settembre 2001], p. 139.
- BORGIO M. (1988) - *Problemi connessi alla presenza della "flavescenza dorata" della vite in provincia di Treviso*. Rivista di Viticoltura e di Enologia di Conegliano, 41 (6): 250-259.
- BORGIO M. (1996) - *Diffusione di legno nero e flavescenza dorata*. Inf. agrario, 52 (20): 72-75.
- BORGIO M., MURARI E., SARTORI S., ZANZOTTO A., SANCASSANI P., BERTACCINI A. (1999) - *Termoterapia per eliminare i fitoplasmi da vite*. Inf. agrario, 55 (24): 47-51.
- BOSCO D., ALMA A., ARZONE A. (1997) - *Studies on population dynamics and spatial distribution of leafhoppers in vineyards (Homoptera: Cicadellidae)*. Ann. appl. Biol., 130: 1-11.

- BOSELLI M., SCANNAVINI M., MELANDRI M. (2000) - *Confronto fra strategie di difesa contro la tignoletta della vite*. Inf. agrario, 56 (19): 61-65.
- BOSIO G., ROSSI A. (2001) - *Ciclo biologico in Piemonte di Scaphoideus titanus*. Inf. agrario, 57 (21): 75-78.
- BOSIO G., DELLAVALLE D., FERRARESE D., FERRARI D., OCCHETTI P. (2001) - *Evoluzione delle popolazioni di Scaphoideus titanus a seguito di interventi insetticidi*. Inf. agrario, 57 (21): 79-84.
- BOSIO G., MARTINEZ M.C., OCCHETTI P., ROVETTO I., DELLAVALLE D., LAIOLO L., VALUTA G. (2004) - *Valutazione dell'efficacia di diversi insetticidi per la lotta alle forme giovanili di Scaphoideus titanus Ball su vite in Piemonte*. In: Atti Giornate Fitopatologiche 2004, vol. 1, pp. 95-102.
- BOTTURA N., MORI N., POSENATO G., SANCASSANI G.P., GIROLAMI V. (2003) - *Lotta alle cicaline nei vigneti a conduzione biologica*. Inf. agrario, 59 (15): 75-79.
- BOUDON-PADIEU E., LARRUE J., CAUDWELL A. (1989) - *ELISA and Dot-blot detection Flavescence dorée MLO in individual leafhopper vectors during latency and inoculative state*. Current Microbiol., 19: 357-364.
- BRESSAN S., BOCCALON W., COLAUTTI M., MUTTON P., SEFANELLI G., VILLANI A., VINZI L., PAVAN F. (2002) - *Regolatori di crescita contro la prima generazione delle tignole della vite*. Inf. agrario, 58 (24): 65-70.
- BRESSAN A., SPIAZZI S., CAPUZZO C., GIROLAMI V., BOUDON-PADIEU E. (2003) - *Seasonal probability of Flavescence dorée phytoplasma transmission in relation to abundance of leafhopper vectors and source for acquisition*. In: Proc. 14<sup>th</sup> Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICVG), [Locorotondo (BA-Italy), september 12-17, 2003], pp. 107-108.
- CAOBELLI R., CARCERERI G. (1995) - *Lotta biologica alla cicalina della vite*. Inf. agrario, 51 (33): 75-77.
- CARLE P. (1965) - *Relations alimentaires entre Malacocoris chlorizans Pz. (Hémipt. Hétéropt. "Miridae") et Scaphoideus littoralis Ball (Hémipt. Homopt. "Jassidae") sur le Vitis du Sud-Ouest de la France*. Rev. Zool. agric. appl., 64 (7-9): 72-78.
- CARLE P., SCHVESTER D. (1964) - *Nouvelle mise au point su le lutte contre Scaphoideus titanus Ball, cicadelle vectrice de la flavescence dorée de la vigne*. Rev. Zool. agric. appl., 63 (7-9): 107-114.
- CARRARO L., PAVAN F. (1988) - *La flavescenza dorata della vite in Friuli. I primi risultati delle ricerche nel 1987*. Un vigneto chiamato Friuli, 6 (4): 6-10.
- CARRARO L., LOI N., KUSZALA C., CLAIR D., BOUDON-PADIEU E., REFATTI E. (1994) - *On the ability-inability of Scaphoideus titanus Ball to transmit different Grapevine yellows agents*. Vitis, 33: 231-234.
- CARUSO S., MAZIO P. (2004) - *Verifica dell'efficacia di alcuni insetticidi e delle relative strategie di difesa contro Scaphoideus titanus Ball in vigneti a conduzione biologica nelle provincie di Modena e Reggio Emilia nel biennio 2002-2003*. In: Atti Giornate Fitopatologiche 2004, vol. 1, pp. 109-110.
- CASATI P., BIANCO P.A. (1998) - *Possible improvement in phytoplasma detection*. In: Proc. COST Meeting: "Mass Scale Diagnosis of Plant Pathogens by Nucleic Acids Amplification Methodologies" [Faro (Portugal), July 9-10, 1998], pp. 93-96.
- CAUDWELL A. (1957) - *Deux années d'études sur la flavescence dorée, nouvelle maladie grave de la vigne*. Annales de l'Amélioration des Plantes, 4: 359-393.
- CAUDWELL A. (1961) - *Les phénomènes de rétablissement chez la flavescence dorée de la vigne*. Ann. Epiphyties, 12 (3): 347-354.
- CAUDWELL A. (1966) - *L'inhibition in vivo du virus de la flavescence dorée par la chaleur*. Études de virologie, Ann. Epiphyties, 17: 61-66.
- CAUDWELL A. (1981) - *La flavescence dorée de la vigne en France*. Phytoma. Défense des Cultures, 325: 16-19.
- CAUDWELL A. (1993) - *Advances in Grapevine yellows research since 1990*. In: Proc. XI Meeting ICVG, [Montreux (Switzerland), 1993], pp. 79-93.
- CAUDWELL A., KUSZALA C. (1992) - *Mise au point d'un test ELISA sur les tissus de vignes atteintes de flavescence dorée*. Res. Microbiol., 143: 791-806.
- CAUDWELL A., LARRUE J. (1986) - *La flavescence dorée dans le Midi de la France et dans le Bas-Rhône*. Progres Agricole et Viticole, 103, (22): 517-523.
- CAUDWELL A., KUSZALA C., BACHELIER J.C., LARRUE J. (1970) - *Transmission de la flavescence dorée de la vigne aux plantes herbacées par l'allongement du temps d'utilisation de la cicadelle Scaphoideus titanus Ball et l'étude de sa survie sur un grand nombre d'espèces végétales*. Ann. Phytopathol., 2 (2): 415-428.
- CAUDWELL A., GIANNOTTI J., KUSZALA C., LARRUE J. (1971) - *Étude du rôle de particules de type "Mycoplasme" dans l'étiologie de la flavescence dorée de la vigne. Examen cytologique des plantes malades et des cicadelles infectieuses*. Ann. de Phytopathologie, 3 (1): 107-123.
- CAUDWELL A., KUSZALA C., LARRUE J., BACHELIER J.C. (1972) - *Transmission de la flavescence dorée de la vigne à 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., 181-189.
- CAUDWELL A., MEIGNOZ R., KUSZALA C., SCHNEIDER C., LARRUE J., FLEURY A., BOUDON E. (1982) - *Purification immunologique et observation ultramicroscopique en milieu liquide, de l'agent pathogène (MLO) d'une jaunisse végétale la flavescence dorée de la vigne*. Academie d'Agriculture de France: 407-415.
- CAUDWELL A., BOUDON-PADIEU E., KUSZALA C., LARRUE J. (1987) - *Biologie et étiologie de la flavescence dorée. Recherches sur son diagnostic et sur les méthodes de lutte*. In: Atti Conv. Int. "La Flavescenza dorata della vite" [Vicenza-Verona, 28-29 maggio 1987], pp. 175-208.

- CAUDWELL A., LARRUE J., VALAT C., GREANAN S. (1990) - *Hot water treatments against Flavescence dorée of grapevine on dormant wood*. In: Extended summary of 10<sup>th</sup> Meeting of ICGV, [Volos (Greece), 3-7 september 1990], pp. 336-343.
- CAUDWELL A., LARRUE J., TASSART V. (1994) - *Caractère "porteur de la flavescence dorée" chez les vignes porte-greffes, en particulier le 3309 Couderc et le Fercal*. Agronomie, 14 (2): 83-94.
- CAVALLINI G., CASTIGLIONI A., BORTOLOTTI P., MORI N., NICOLI ALDINI R., BOTTI S., MALOSSINI A., BERTACCINI A. (2003) - *Flavescenza dorata e legno nero in vigneti del Modenese*. Inf. agrario, 59 (21): 69-71.
- CAZENAVE R., PLANAS R. (1991) - *Lutte contre la flavescence dorée de la vigne dans le cadre de l'agriculture biologique*. Prog. Agric. Vitic., 108 (2): 44-46.
- CHARAYRON B. (1997) - *La flavescence dorée dans les départements de l'Aude et des Pyrénées-orientales*. Phytoma, 496: 21-22.
- CLAIR D., LARRUE J., AUBERT G., GILLET J., CLOQUEMIN G., BOUDON-PADIEU E. (2003) - *A multiplex nested-PCR assays for sensitive or 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: 151-157.
- CRAVEDI P., MAZZONI E. (2002) - *Strategie di lotta contro Scaphoideus titanus Ball nell'ambito della difesa integrata della vite*. In: Atti Giornate Fitopatologiche 2002, vol. 1, pp. 55-58.
- CRAVEDI P., NICOLI ALDINI R. (2000) - *Lo Scaphoideus titanus, vettore della flavescenza dorata della vite in Oltrepò pavese*. Vignevini, 27 (9): 56-60.
- CRAVEDI P., MAZZONI E., CERVATO P., LIBÉ A. (1992) - *Ricerche sulla diffusione di Scaphoideus titanus Ball (Homoptera: Cicadellidae) in vigneti della provincia di Piacenza*. Ann. Fac. Agr. Univ. Catt. Sacro Cuore Piacenza, 33 (2): 131-149.
- CRAVEDI P., MAZZONI E., CERVATO P. (1993) - *Osservazioni sulla biologia di Scaphoideus titanus Ball (Homoptera: Cicadellidae)*. Redia, 76 (1): 57-70.
- CREDI R., SANTUCCI A., MARTINI L. (1990) - *Trials on graft transmission of a grapevine Flavescence dorée like disease*. Phytopath. medit., 29: 7-13.
- DAIRE X., BOUDON-PADIEU E., BERVILLE A., SCHNEIDER B., CAUDWELL A. (1992) - *Cloned DNA probes for detection of grapevine Flavescence dorée mycoplasma-like organism (MLO)*. Ann. Appl. Biol. 121: 95-103.
- 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 stolbur subgroup by PCR amplification of non-ribosomal DNA* Europ. J. Plant Pathol. 103: 507-513.
- DECOIN M. (1995) - *Flavescence dorée. La guerre des Corbières*. Phytoma, 477: 26-28.
- DEL SERRONE P., MINUCCI C., BARBA M., CONTI M., BOCCARDO G. (1995) - *Ottimizzazione della diagnosi molecolare di fitoplasmi in vite*. Petria, 5 (2): 161-170.
- DENG S., HIRUKI D. (1991) - *Amplification of 16S rRNA genes from culturable and non culturable mollicutes*. J. Microbiol. Methods, 14: 53-61.
- DI MARCO S., OSTI F., CESARI A. (2004) - *Experiments on the control of esca by Trichoderma*. Phytopath. medit., 43: 108-115.
- DUDUK B., BOTTI S., IVANOVIC M., KRSTIC B., DUKIC N., BERTACCINI A. (2004) - *Identification of phytoplasmas associated with Grapevine yellows in Serbia*. J. Phytopathol., 152: 575-579.
- DUSO C., PAVAN F. (1986) - *Il controllo delle tignole della vite (Lobesia botrana Den. e Schiff.; Eupoecilia ambiguella Hb.). 2. Considerazioni sugli effetti collaterali di insetticidi diversi*. Rivista di Viticoltura e di Enologia di Conegliano, 39 (7): 304-312.
- EDWARDS J., PASCOE I.G., SALIB S., LAUKART N. (2004) - *Hot water treatment of grapevine cuttings reduces incidence of Phaeomonniella chlamydospora in young vines*. Phytopath. medit., 43: 158-159.
- EPO (1988) - *Standard 19 - Fumigation of grapevine to control Daktulosphaira vitifoliae*. EPO recommendations on fumigation standards. EPO Bulletin, 18: 337-341.
- FIRRAO G., PALMANO S., MALOSSINI G., TOMAIA I., CAMPANELLI A., DAZZAN M., FRAUSIN C. (2000) - *Monitoring Grapevine yellows in North-Eastern Italy*. J. Plant Pathol., 82 (1): 73.
- FORTUSINI A., SARACCHI M., BELLI G. (1989) - *Trasmissione sperimentale della flavescenza dorata della vite mediante Scaphoideus titanus Ball in Italia*. Vignevini, 9: 43-46.
- FORTUSINI A., SARACCHI M., BELLI G. (1999) - *Intérêt du flufenoxuron dans la lutte contre la cicadelle vecteur de la flavescence dorée (Scaphoideus titanus)*. In: Proc. 5<sup>th</sup> International Conference on Pests in Agriculture, Part 2 [Montpellier (France), 7-9 December 1999], pp. 349-360.
- FRANÇOIS P., RENOU C., LARRUE J. (1999) - *Intérêt du flufenoxuron dans la lutte contre la cicadelle vecteur de la flavescence dorée (Scaphoideus titanus)*. In: Proc. 5<sup>th</sup> International Conference on Pests in Agriculture, Part 2 [Montpellier (France), 7-9 December 1999], pp. 349-360.
- FRAUSIN C. (2002) - *Resoconto di due anni di attività per l'eradicazione della flavescenza dorata della vite dal Friuli*. Notiziario ERSA, 14 (3): 35-42.
- FRAUSIN C., OSLER R. (2005) - *La flavescenza dorata della vite in Friuli-Venezia Giulia: le azioni intraprese per contrastarne la diffusione*. Notiziario ERSA (2004), 17 (5-6): 40-48.
- FRAUSIN C., GREGORIS A., ANACLERIO F. (2000a) - *Verifica di pratica utilizzazione della tecnica di termoterapia in acqua calda per il risanamento di talee di vite affette da Giallume (GY)*. In: Atti Conv. "Flavescenza dorata e Legno nero della vite in Friuli-Venezia Giulia: i risultati di un programma pluriennale di controllo" [Gorizia (Italia), 5 novembre 1999], pp. 85-89.

- FRAUSIN C., ORTEZ A., GREGORIS A., COIUTTI C., MUCIGNAT D., ZANNOL A. (2000b) - *Il vivaismo viticolo del Friuli-Venezia Giulia e la flavescenza dorata della vite: situazione attuale, preoccupazioni, azioni di prevenzione*. In: Atti Conv. "Flavescenza dorata e Legno nero della vite in Friuli-Venezia Giulia: i risultati di un programma pluriennale di controllo" [Gorizia (Italia), 5 novembre 1999], pp. 79-84.
- 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 arrays as a tool to detect grapevine infecting phytoplasmas*. *Minerva biotecnologica*, 14: 265-267.
- GIROLAMI V. (2000) - *Vettori e problemi aperti sui giallumi della vite*. *Petria*, 10 (2): 167-170.
- GIROLAMI V., MORI N., MARCHESINI E., DUSO C. (2001) - *Organophosphate resistance in grape leafhoppers and IPM strategies*. *Redia*, 84, appendice: 1-17.
- GIROLAMI V., MORI N., BORELLA E., CAPUZZO C., SCOPEL C., POSENATO G. (2002) - *Lotta integrata al vettore della flavescenza dorata*. *Inf. agrario*, 58 (14): 10-11.
- GOHEEN A.C., NYLAND G., LOWE S.K. (1973) - *Association of a rickettsialike organism with Pierce's Disease of grapevines and Alfalfa Dwarf and heat therapy of disease in grapevines*. *Phytopathology*, 63: 341-345.
- GUNDERSEN D.E., LEE I.-M. (1996) - *Ultrasensitive detection of phytoplasmas by nested-PCR assays using two universal primer pairs*. *Phytopath. mediterr.*, 35: 144-151.
- 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. *Int. J. Syst. Evolut. Microbiol.*, 54: 1243-1255.
- JERMINI M., ROSSI A., BAILLOD M. (1992) - *Étude du piégeage de la cicadelle Scaphoideus titanus Ball à l'aide de pièges jaunes*. *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, 24 (4): 235-239.
- JERMINI M., D'ADDA G., BAUMGÄRTNER J., LOZZIA G.C., BAILLOD M. (1993) - *Nombre des pièges englués nécessaires pour estimer la densité relative des populations de la cicadelle Scaphoideus titanus Ball en vignoble*. *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Ser. II, 25 (1): 91-102.
- KARANDINOS M.G. (1976) - *Optimum sample size and comments on some published formulae*. *Bull. entomol. Soc. Am.*, 22 (1): 417-421.
- KIRKPATRICK B., STENGER D.C., MORRIS T.J., PURCELL A.H. (1987) - *Cloning and detection of DNA from a nonculturable plant pathogenic mycoplasma-like organism*. *Science*, 283: 197-200.
- LEE I.-M., HAMMOND R.W., DAVIS R.E., GUNDERSEN D.E. (1993) - *Universal amplification and analysis of pathogen 16S rDNA for classification and identification of mycoplasma-like organisms*. *Phytopathology*, 83: 834-842.
- LEE I.-M., GUNDERSEN D.E., HAMMOND R.W., DAVIS R.E. (1994) - *Use of mycoplasma-like organism (MLO) group-specific oligonucleotide primers for nested-PCR assays to detect mixed-MLO infections in a single host plant*. *Phytopathology*, 84: 559-566.
- LEE I.-M., BERTACCINI A., VIBIO M., GUNDERSEN D.E. (1995) - *Detection of multiple phytoplasmas in perennial fruit trees with decline symptoms in Italy*. *Phytopathology*, 85: 728-735.
- LEE I.-M., GUNDERSEN D.E., DAVIS R.E., BARTOSZYK M. (1998) - *Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of rRNA and ribosomal protein gene sequences*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 48: 1153-1169.
- LEE I.-M., MARTINI M., MARCONE C., SHIFANG F.Z. (2004) - *Classification of phytoplasma strains in the Elm yellows group (16SrV) and proposal of 'Candidatus Phytoplasma ulmi' for the phytoplasma associated with Elm yellows*. *Int. J. Syst. Evolut. Microbiol.*, 54: 337-347.
- LESSIO F., ALMA A. (2004) - *Dispersal patterns and chromatic response of Scaphoideus titanus Ball (Homoptera Cicadellidae), vector of the phytoplasma agent of grapevine Flavescence dorée*. *Agricultural and Forest Entomology*, 6: 121-127.
- LHERMINIER J., TERWISSCHA VAN SCHELTINGA T., BOUNDON-PADIEU E., CAUDWELL A. (1989) - *Rapid immunofluorescent detection of the grapevine Flavescence dorée mycoplasma-like organisms in the salivary glands of the leafhoppers Euscelidius variegatus Kbm.* *J. Phytopathol.*, 125: 353-360.
- LOZZIA G.C. (1992) - *Distribuzione, biologia e controllo di Scaphoideus titanus Ball*. In: Atti Giornate Fitopatologiche 1992, vo. 1, pp. 173-182.
- MALAUSA J.C., NUSSILARD B., GIUGE L. (2003) - *Lutte biologique contre la cicadelle vectrice de la flavescence dorée*. *Phytoma*, 565: 24-27.
- MALOSSINI G., FRAUSIN C., DE BIASIO A.C., GOVERNATORI G., STOCCO D. (2005) - *Flavescenza dorata della vite: le operazioni di contenimento in Friuli-Venezia Giulia nel quinquennio 2000-2004*. *Notiziario ERSA* (2004), 17 (5-6): 23-32.
- MARAMOROSCH K. (1988) - *Strategies against plant mycoplasma diseases and vector of MLOs*. In: Proc. 6<sup>th</sup> Auchenorrhyncha Meeting, [Turin (Italy), 7-11 September 1987], pp. 431-443.
- 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: 925-930.
- MARTINI M., BOTTI S., MARCONE C., MARZACHÌ C., CASATI P., BIANCO P.A., BENEDETTI R., BERTACCINI A. (2002) - *Genetic variability among Flavescence dorée phytoplasmas from different origins in Italy and France*. *Molecular and cellular Probes*, 16: 197-208.
- MARZACHÌ C., GALETTO L., BOSCO D. (2003) - *Real-time PCR detection of Bois noir and Flavescence dorée from field collected symptomatic grapevines*. In: Proc. 14<sup>th</sup> Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICVG) [Locorotondo (BA-Italy), September 12-17, 2003], pp. 56-57.

- MAZIO P., MONTERMINI A. (2004) - *Verifica dell'efficacia di imidacloprid contro Scaphoideus titanus Ball (Rhyncota Cicadellidae) in vigneti reggiani nel triennio 2000-2002*. In: Atti Giornate Fitopatologiche 2004, vol. 1, pp. 103-108.
- MAZZONI E., COLLA R., CHIUSA B., CIAMPITTI M., CRAVEDI P. (2003) - *Experiences for control vector of grape golden flavescence in Lombardia and Emilia-Romagna (Northern Italy) vineyards*. Bulletin OILB/SROP, 26 (8): 221-225.
- MORI N. (2004) - *Monitoraggio di Scaphoideus titanus Ball in Veneto e prove di lotta nei vigneti a conduzione biologica*. In: Interventi per il contenimento della flavescenza dorata della vite nel Veneto. Attività 2003. Regione Veneto-Unione Vini Veneti DOC, pp. 60-69.
- MORI N., MARTINI M., MALAGNINI V., FONTANA P., BRESSAN A., GIROLAMI V., BERTACCINI A. (1999a) - *Vettori dei giallumi della vite: diffusione e strategie di lotta*. Inf. agrario, 55 (24): 53-56.
- MORI N., POSENATO G., SANCASSANI G., TOSI L., GIROLAMI V. (1999b) - *Insetticidi per il controllo delle cicaline nei vigneti*. Inf. agrario, 55 (15): 93-97.
- MORI N., MARTINI M., BRESSAN A., GUADAGNINI M., GIROLAMI V., BERTACCINI A. (2000) - *Experimental transmission by Scaphoideus titanus Ball of two Flavescence dorée type phytoplasmas*. In: Proc. 13<sup>th</sup> Meeting ICVG, [Adelaide (Australia), 2000], pp. 107-108.
- MORI N., BRESSAN A., MARTINI M., GUADAGNINI M., GIROLAMI V., BERTACCINI A. (2002) - *Experimental transmission by Scaphoideus titanus Ball of two Flavescence dorée-type phytoplasmas*. Vitis, 41: 99-102.
- MORI N., BOTTURA N., POSENATO G., SANCASSANI G.P., GIROLAMI V. (2004) - *Lotta contro Scaphoideus titanus Ball nei vigneti a conduzione biologica*. In: Atti Giornate Fitopatologiche 2004, vol. 1, pp. 111-116.
- MOUTOUS G. (1977) - *Définitions des symptômes de la "flavescence dorée" sur les variétés porte-greffés*. Rev. Zool. agric., 76 (3): 90-98.
- MOUTOUS G., FOS A., BESSON J., JOLY E., BILAND P. (1977) - *Résultats d'essais ovicides contre Scaphoideus littoralis Ball, cicadelle vectrice de la Flavescence dorée*. Rev. Zool. agric. Path. végét., 76 (2): 37-49.
- MUSETTI R., STRINGHER L., BORSELLI S., VECCHIONE A., ZULINI L., PERTOT I. (2004) - *Ultrastructural analysis of Vitis vinifera leaf tissues showing atypical symptoms of Plasmopara viticola*. Micron, 36: 73-80.
- MUTTON P., BOCCALON W., BRESSAN S., COASSIN C., COLAUTTI M., DEL CONT BERNARD D., FLOREANI A., ZUCCHIATTI D., PAVAN F., MUCIGNAT D., FRAUSIN C., ANTONIAZZI P., STEFANELLI G., VILLANI A. (2002) - *Legno nero della vite in vigneti di Chardonnay del Friuli-Venezia Giulia*. Inf. fitopat., 52 (1): 52-59.
- OSLER R., FORTUSINI A., BELLI G. (1975) - *Presenza di Scaphoideus littoralis in vigneti dell'Oltrepò pavese affetti da una malattia del tipo "flavescence dorée"*. Inf. fitopat., 25 (6): 13-15.
- OSLER R., VINDIMIAN M.E., CARRARO L., FRAUSIN C., REFATTI E. (1997) - *On the transmission of Grapevine yellows diseases by bench-grafting*. In: Proc. 12<sup>th</sup> Conference ICVG, [Lisbon (Portugal), September 28-October 2<sup>nd</sup>, 1997], pp. 63-64.
- 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*. Inf. agrario, 58 (19): 61-65.
- 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*. In: Atti Progetto POM A32 (vol. II), "Norme fitosanitarie e commercializzazione delle produzioni vivaistiche", [Locorotondo (BA-Italy), 4-7 dicembre 2001], pp. 921-940.
- PAVAN F. (1989) - *Possibilità di controllo dei potenziali vettori dell'agente della flavescenza dorata*. Inf. agrario, 45 (41): 55-61.
- PAVAN F. (2000) - *Occurrence on elm and phenology of Auchenorrhyncha potential vectors of the phytoplasma associated with Elm yellows disease*. Boll. Zool. Agr. Bachic., Ser. II, 32 (1): 59-68.
- PAVAN F., STEFANELLI G. (2000) - *Strategie di lotta contro Scaphoideus titanus e Hyalesthes obsoletus vettori di fitoplasmi associati a giallumi della vite*. In: Atti Conv. "Flavescenza dorata e Legno nero della vite in Friuli-Venezia Giulia: i risultati di un programma pluriennale di controllo" [Gorizia (Italia), 5 novembre 1999], pp. 71-77.
- PAVAN F., STRAPAZZON A. (1991) - *Influenza del colore delle trappole cromotropiche sulle catture di fitomizi della vite*. In: Atti XVI Congresso nazionale italiano di Entomologia, [Bari-Martina Franca (TA), 23-28 settembre 1991], pp. 755-762.
- PAVAN F., PAVANETTO E., DUSO C. (1987) - *Dinamica di popolazione di Scaphoideus titanus Ball*. In: Atti Conv. Int. "La Flavescenza dorata della vite" [Vicenza-Verona, 28-29 maggio 1987], pp. 149-155.
- PAVAN F., CARRARO L., GIROLAMI V., OSLER R., REFATTI E. (1989) - *Nuove risultanze sperimentali sulla flavescenza dorata della vite acquisite nelle ricerche condotte nella regione Friuli-Venezia Giulia*. Notiziario ERSA, 2 (3): 4-17.
- PAVAN F., ANTONIAZZI P., DEL CONT BERNARD D. (1996) - *Danni da Neopulvinaria innumerabilis (Rathvon) nei vigneti e strategie di controllo*. Inf. fitopat., 46 (2): 50-58.
- PAVAN F., CARRARO L., VETTORELLO G., PAVANETTO E., GIROLAMI V., OSLER R. (1997a) - *Flavescenza dorata nei vigneti delle colline trevigiane*. Inf. agrario, 53 (10): 73-78.
- PAVAN F., VILLANI A., FORNASIER F., GIROLAMI V. (1997b) - *Ruolo del vivaismo nella diffusione della flavescenza dorata*. Inf. agrario, 53 (10): 69-71.

- PAVAN F., BELLOMO C., VIDONI F., BIGOT G., OSTAN M., BOCCALON W., BRESSAN S., MUTTON P., FRAUSIN C., DE BIASIO A., GOVERNATORI G., MUCIGNAT D., FARFUGIA C., GIORGIUTTI D., GON F., ZANUTTA S., MALISON M., BATTISTON I., MASOTTI M., STASI G., STEFANELLI G., VILLANI A., VINZI L. (2005) - *Efficacia della lotta insetticida contro Scaphoideus titanus in Friuli-Venezia Giulia*. Supplemento al Notiziario ERSA, 17 (5-6): 11-20.
- PLANAS R. (1987) - *Expérience de lutte contre la flavescence dorée dans le vignoble audois*. In: Atti Conv. Int. "La Flavescenza dorata della vite" [Vicenza-Verona, 28-29 maggio 1987], pp. 237-247.
- POSENATO G., GIROLAMI V. (1994) - *Diffusione e evoluzione della flavescenza dorata nell'area orientale del Soave*. Inf. agrario, 50 (22): 57-60.
- POSENATO G., CONSOLARO R., MORI N. (1996a) - *Scaphoideus titanus Ball e altre cicaline nel Veneto orientale*. Inf. agrario, 52 (20): 69-71.
- POSENATO G., CONSOLARO R., MORI N., GIROLAMI V. (1996b) - *La flavescenza dorata nell'area del Soave*. Inf. agrario, 52 (20): 61-65.
- POSENATO G., MORI N., BRESSAN A., GIROLAMI V., SANCASSANI G.P. (2001) - *Scaphoideus titanus, vettore della flavescenza dorata: conoscerlo per combatterlo*. Inf. agrario, 57 (15): 91-93.
- POSENATO G., MORI N., BRESSAN A., STEFANELLI G., PAVAN F., GIROLAMI V. (2002) - *Valutazione dell'attività di alcuni insetticidi nei confronti degli adulti di Scaphoideus titanus Ball e Metcalfa pruinosa (Say)*. In: Atti Giornate Fitopatologiche 2002, vol. 1, pp. 459-462.
- PRINCE J.P., DAVIS R.E., WOLF T.K., LEE I.-M., MOGEN B.D., DALLY E.L., BERTACCINI A., CREDI R., 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: 1130-1137.
- PURCELL A.H. (1985) - *The ecology of bacterial and mycoplasma plant diseases spread by leafhoppers and planthoppers*. In: NAULT L.R., RODRIGUEZ J.G. (eds.), *The leafhoppers and planthoppers*. New York, USA, pp. 351-380.
- RAGAZZI A., MORICCA S., DELLA VALLE I. (2004) - *Endophytism in forest trees*. Accademia Italiana di Scienze Forestali, Firenze, 2004.
- REFATTI E., CARRARO L., OSLER R., LOI N., PAVAN F. (1998) - *Presenza di differenti tipi di giallumi della vite nell'Italia nord-orientale*. Petria, 8 (1): 85-98.
- ROUSSEAU J. (1997) - *Flavescenza dorata: che fare in bio?*. Agricoltura Biologica, 11 (1): 20-23 (suppl. Notiziario ERSA 10 (4), 1997).
- RUI D., BELLÌ G., FORTUSINI A., PIZZOLI L., TORRESIN G.C. (1987) - *Ulteriore contributo conoscitivo sulla flavescenza dorata della vite*. In: Atti Conv. Int. "La Flavescenza dorata della vite" [Vicenza-Verona, 28-29 maggio 1987], pp. 35-54.
- SCATTINI G., BIANCO P.A., CASATI P., BELLÌ G. (2000) - *Gravi manifestazioni di flavescenza dorata su "Sangiovese" in vigneti della Valtenesi (Lombardia)*. Vignevini, 9: 104-108.
- SCHNEIDER B., SEEMÜLLER E., SMART D., KIRKPATRICK B.C. (1995) - *Phylogenetic classification of plant pathogenic mycoplasma-like organisms or phytoplasmas*. In: RAZIN S., TULLY J.G. (eds.), *Molecular and diagnostic procedures in mycoplasmaology, vol. 1*. Academic Press, San Diego (CA-USA), pp. 369-380.
- SCHVESTER D. (1969) - *Traitments insecticides et guérison des vignes atteintes de flavescence dorée*. Ann. Zool. Écol. anim., 1 (4): 467-494.
- 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: 1021-1024.
- SCHVESTER D., MOUTOUS G., BONFILS J., CARLE P. (1962a) - *Étude biologique des cicadelles de la vigne dans le sud-ouest de la France*. Ann. Épiphyties, 13 (3): 205-237.
- SCHVESTER D., MOUTOUS G., CARLE P. (1962b) - *Scaphoideus littoralis Ball (Homopt. Jassidae) cicadelle vectrice de la flavescence dorée de la vigne*. Rev. Zool. agric. et appl., 61 (10-12): 118-131.
- SCHVESTER D., CARLE P., MOUTOUS G. (1963) - *Transmission de la flavescence dorée de la vigne par Scaphoideus littoralis Ball (Homopt. Jassidae)*. Ann. Épiphyties, 14 (3): 175-198.
- SCHVESTER D., CARLE P., MOUTOUS G. (1969) - *Nouvelles données sur la transmission de la flavescence dorée de la vigne par Scaphoideus littoralis Ball*. Ann. Zool. Écol. anim., 1 (4): 445-465.
- SCHWARTZ Y., BOUDON-PADIEU E., GRANGE J., MEIGNOZ R., CAUDWELL A. (1989) - *Obtention d'anticorps monoclonaux spécifique de l'agent pathogène de type Mycoplasme (MLO) de la flavescence dorée de la vigne*. Res. Microbiol., 140: 311-324.
- SEDDAS A., MEIGNOZ R., DAIRE X., BOUDON-PADIEU E., CAUDWELL A. (1993) - *Purification of grapevine Flavescence dorée MLO (Mycoplasma like organism) by immunoaffinity*. Current Microbiol., 27: 229-236.
- SEDDAS A., MEIGNOZ R., KUSZALA C., BOUDON-PADIEU E. (1995) - *Evidence for the physical integrity of Flavescence dorée phytoplasmas purified by immunoaffinity from infected plants or leafhoppers and the plant pathogenicity of phytoplasmas from leafhoppers*. Plant Pathol., 44: 971-978.
- SEDDAS A., MEIGNOZ R., DAIRE X., BOUDON-PADIEU E. (1996) - *Generation and characterization of monoclonal antibodies to Flavescence dorée phytoplasma: serological relationship and differences in electrophoretic immunoblot profiles of Flavescence dorée and Elm yellows phytoplasmas*. Europ. J. Plant Pathol., 102: 757-764.
- SFORZA R., BOUDON-PADIEU E. (1998) - *Le principal vecteur de la maladie du Bois noir*. Phytoma, 510: 33-37.

- SHARMINI J., SCOTT E.S., WICKS T.J., HUNT J.S. (2004) - *Interactions between Eutypa lata and Trichoderma harzianum*. *Phytopath. medit.*, 43: 95-104.
- SMART C.D., SCHNEIDER B., BLUMQUIST C.L., GUERRA J., HARRISON N.A., AHRENS U., LORENZ K.H., SEEMÜLLER E., KIRKPATRICK B.C. (1996) - *Phytoplasma-specific PCR primers based on sequences of the 16S-23S rRNA spacer region*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62: 2988-2993.
- STEFANELLI G., VILLANI A. (1997) - *L'utilizzo di regolatori di crescita nel controllo di Scaphoideus titanus Ball*. In: "Lotta guidata e integrata in viticoltura nel Codroipese. Anno 1996", CSA-ERSA, pp. 53-55.
- STEFANELLI G., VILLANI A., OIAN B., MUTTON P., PAVAN F., GIROLAMI V. (1994) - *Prove di lotta contro Metcalfa pruinosa (Say)*. *Inf. agrario*, 50 (30): 57-63.
- STEFANELLI G., VILLANI A., COIUTTI C., GREGORIS A., FRAUSIN C. (2000) - *Fenologia di Scaphoideus titanus Ball in diverse aree viticole del Friuli-Venezia Giulia*. In: Atti Conv. "Flavescenza dorata e Legno nero della vite in Friuli-Venezia Giulia: i risultati di un programma pluriennale di controllo" [Gorizia (Italia), 5 novembre 1999], pp. 37-43.
- STEFANELLI G., VINZI L., VILLANI A. (2002) - *Prove di lotta a Scaphoideus titanus Ball nei vigneti a conduzione biologica. Confronto tra alcuni insetticidi*. In: "Lotta guidata e integrata in viticoltura nel Codroipese. Anno 2001", CSA-ERSA, pp. 50-54.
- STEFANELLI G., VINZI L., VILLANI A. (2004) - *Prova di lotta a Pulvinaria maggiore Neopulvinaria innumabilis (Rathvon) su vite*. In: "Lotta guidata e integrata in viticoltura nel Codroipese. Anno 2003", CSA-ERSA, pp. 40-44.
- STERK G., HASSAN S.A., BAILLOD M., BAKKER F., BIGLER F., BLUMER S. BOGENSCHÜTZ H., BOLLER E., BROMAND J., BRUN J., CALIS J.N.M., COREMANS-PELSENEER J., DUSO C., GARRIDO A., GROVE A., HEIMBACH U., HOKKANEN H., JACAS J., LEWIS G.B., MORETH L., POLGAR L., ROVESTI L., SAMSØE-PETERSEN L., SAUPHANOR B., SCHAUB L., STÄUBLI A., TUSET J.J., VAINIO A., VAN DE VEIRE M., VIGGIANI G., VIÑUELA E., VOGT H. (1999) - *Results of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the IOBC-WPRS Working Group 'Pesticides and Beneficials Organisms'*. *BioControl*, 44 (1): 99-117.
- SUTRE B., FOS A. (1997) - *Anagrus atomus, parasitoïde naturel de cicadelles*. *Phytoma*, 495: 40-44.
- TAYLOR L.R. (1961) - *Aggregation, variance and mean*. *Nature*, 189: 732-735.
- VERCESI A., SCATTINI G. (2000) - *Diffusione della flavescenza dorata della vite in Oltrepò pavese*. *Vignevini*, 27 (9): 52-55.
- VIDANO C. (1964) - *Scoperta in Italia dello Scaphoideus littoralis Ball, cicalina americana collegata alla "flavescenza dorée" della vite*. *L'Italia agricola*, 101 (10): 1031-1049.
- VIDANO C. (1966) - *Scoperta della ecologia ampelofila del cicadellide Scaphoideus littoralis Ball nella regione neartica originaria*. *Ann. Fac. Sci. agr. Univ. Torino*, 3: 297-302.
- VINDIMIAN M.E., MESCALCHIN E., DAL RI M., FILIPPI M. (1993) - *Ulteriori conoscenze della flavescenza dorata*. *Terra Trentina*, 39 (8): 22-27.
- ZUCCHETTO C. (1998) - *Epidemiologia ed evoluzione dei sintomi della flavescenza dorata nell'area del Prosecco*. Tesi di laurea, Istituto di Entomologia agraria, Università di Padova, a.a. 1997-98: 62 + II pp.

## 8. Legno nero della vite

### 8.1 Caratteristiche generali ed eziologia del legno nero

Maurizio Conti

Il legno nero rientra tra le ampelopatie genericamente note come giallumi della vite (*Grapevine yellows*, GY) e causate da fitoplasmi trasmessi da cicaline che si alimentano specificamente nel floema delle piante. Esso venne descritto la prima volta da Caudwell (1961) in Francia con il nome di *Bois noir* (BN) quindi, poco più tardi, in Germania come *Vergilbungskrankheit* (VK: Gartel, 1965) e correttamente inquadrato sin dall'inizio – in base a caratteristiche sintomatologiche e infettività – come malattia affine alla flavescenza dorata (FD), ma non identica perché non trasmissibile mediante la cicalina *Scaphoideus titanus* vettore specifico di FD. Il termine ‘legno nero’ (LN) è la traduzione italiana dell'originaria denominazione della malattia, adottato in seguito all'accertamento della sua presenza anche in Italia. All'inizio degli anni ottanta, un'altra malattia simile si manifestò in forma epidemica su giovani piante di ‘Chardonnay’ di origine clonale nella regione francese dello Champagne, e venne chiamata *Vein yellowing leafroll* (Caudwell *et al.*, 1983): essa fu in seguito ritenuta una particolare “espressione” sintomatica di BN, forse imputabile a interazioni con infezioni virali portate dal portinnesto (Caudwell *et al.*, 1985). Soltanto una decina di anni fa i fitoplasmi associati a BN, LN e VK furono caratterizzati a livello genomico accertando che tutti appartengono al raggruppamento tassonomico dello stolbur (16SrXII) (Maixner *et al.*, 1995; Daire *et al.*, 1997). Giallumi della vite causati da fitoplasmi di questo gruppo sono stati descritti in molti paesi europei quali Svizzera, Ungheria, Croazia, Grecia – oltre a Francia, Germania e Italia – e anche in Israele

le e Australia (Bertaccini *et al.*, 1995; Tanne *et al.*, 1995; Daire *et al.*, 1997). Gli isolati europei appartengono al sottogruppo ribosomico 16SrXII-A, quelli australiani al sottogruppo 16SrXII-B (*Australian grapevine yellows*, AGY). Anche sul territorio nazionale la presenza di LN è praticamente ubiquitaria, a conferma dell'elevato potenziale di diffusione di questa fitoplasmosi (Granata, 1982; Egger e Borgo, 1983; Credi e Babini, 1984; Refatti, 1993; Del Serrone *et al.*, 1995; Belli *et al.*, 1997; Garau *et al.*, 1997; Sfalanga *et al.*, 1999).

*Stolbur* è il nome di una malattia epidemica tipica delle solanacee (peperone, pomodoro, melanzana) descritta originariamente nell'Europa centro-orientale, quindi comparsa via via altrove e attualmente endemica in tutta Europa. In pomodoro e melanzana lo stolbur si manifesta con riduzione di sviluppo, sterilità (aborto e rigonfiamento dei bottoni fiorali: *Tomato big bud* = TBB), virescenza (trasformazione dei fiori in organi clorofilliani), scopazzi (emissione abnorme di getti ascellari e conseguente aspetto ‘cespuglioso’ delle piante), pigmentazione verde intensa e poi rosso-violetta delle foglie, accartocciamento fogliare. In peperone i sintomi sono simili, a parte il fatto che la vegetazione è affetta da giallume anziché arrossamento. Il fitoplasma agente, considerato il ceppo di riferimento del gruppo 16SrXII, è caratterizzato da una certa variabilità genetica (Minucci e Boccardo, 1997) e da una consistente varietà di ospiti: oltre alle solanacee ricordate, infatti, può infettare numerose specie vegetali anche in altre famiglie botaniche. Tra la vegetazione spontanea, ad esempio, ne sono ospiti abbastanza comuni la piantaggine (*Plantago media*), i rovi (*Rubus* spp.), l'ortica (*Urtica dioica*) e il convolvolo (*Convolvulus arvensis*). Vettore specifico dello stolbur è la cicalina cixiide *Hyalesthes obsoletus* che trasmette anche VK in Germania

(Maixner, 1994), BN in Francia (Sforza *et al.*, 1998) e LN in Italia (Alma *et al.*, 2002).

In base alle omologie di sequenza e alle caratteristiche ‘biologiche’ – gamma di piante ospiti, sintomatologia, identità del vettore – si può concludere che i fitoplasmi del gruppo stolbur (16SrXII) costituiscono un raggruppamento tassonomico omogeneo di patogeni che infettano un’ampia gamma di specie vegetali compresa la vite, che reagisce con la sindrome indicata indifferentemente come BN, LN o VK in funzione delle diverse località geografiche. In natura i fitoplasmi del gruppo sono trasmessi in modo specifico da *H. obsoletus* ma alcuni indizi epidemiologici suggeriscono che esistono anche altri vettori, come viene discusso al § 8.2 *Epidemiologia* successivo (Sforza *et al.*, 1997; Conti, 2001) (foto 1).

I sintomi indotti da LN non si discostano da quelli associati alla FD o ad altre fitoplasmosi della vite sicché il riconoscimento dell’agente della sindrome in base a un semplice esame visivo è assolutamente da escludere: a tal fine è indispensabile ricorrere ad appropriati saggi diagnostici come quelli descritti al § 8.3 *Diagnosi* del presente lavoro. Le piante infette in primavera manifestano colorazione anomala delle foglie: gialla, molto vivace, nei vitigni a uva bianca, spesso localizzata tipicamente intorno alle nervature, e rosso-viva nei vitigni a uva rossa, sia perinervale, sia estesa a porzioni più ampie della lamina (foto 2-3). In quest’ultimo caso, le zone arrossate sono delimitate in modo netto e caratteristico da nervature secondarie o di ordine inferiore. In seguito le foglie si accartocciano verso il basso fino ad assumere – nei casi estremi – un profilo triangolare, divengono spesse e coriacee colorandosi in modo uniforme su tutta la lamina: giallo dorato oppure rossastro, secondo la varietà (foto 4). Possono comparire inoltre alterazioni necrotiche – generalmente più frequenti nelle varietà a uva bianca – che si estendono a vaste zone della lamina fogliare la quale può, in seguito, distaccarsi e cadere mentre il picciolo rimane attaccato alla pianta (foto 5-6). Tra i sintomi primaverili più gravi può rientrare il disseccamento del capo a frutto, talora dopo un inizio di germogliamento apparentemente normale (foto 7).

Al principio dell’estate le infiorescenze possono disseccare e cadere oppure appassire, assumere colorazione violacea e rimanere sul tralcio; questo fenomeno è stato osservato anche su piante prive di sintomi fogliari evidenti. Nel caso di infezioni tardive, le piante possono produrre anche qualche grappolo, destinato in seguito ad appassire e disseccare. I tralci presentano accorciamento degli internodi che conferisce un aspetto insolitamente

compatto alla vegetazione e non lignificano, o lignificano soltanto parzialmente, assumendo un portamento flessuoso (foto 8-9). Numerose pustole nerastre possono comparire in prossimità dei nodi di alcune cultivar, soprattutto Chardonnay, la prima sulla quale venne osservata la malattia che da questo sintomo particolare prese il nome (Caudwell, 1961), (foto 10). Entro qualche anno dall’inizio dell’infezione le piante possono morire, di norma per la sovrapposizione di altre cause di stress biotico o abiotico, come si verifica in Liguria – dove la malattia è stata infatti denominata “moria della vite” – in conseguenza della povertà nutrizionale dei terreni, dello stress idrico e della forte escursione termica estiva (Conti *et al.*, 1997). In condizioni colturali più favorevoli, per contro, alcune cultivar possono presentare casi di ‘guarigione’ o, quanto meno, di remissione dei sintomi che viene favorita da potature energiche eseguite dopo il manifestarsi dell’infezione (Belli *et al.*, 1997; Refatti *et al.*, 1998). Le cause di questo fenomeno non sono ancora note, ma costituiscono oggetto di accurate ricerche date le ovvie implicazioni di interesse economico-pratico.

I sintomi più vistosi e caratteristici di LN – accartocciamento e giallume o arrossamento delle foglie – si riscontrano anche nella reazione della vite ad attacchi parassitari di altra natura e a stress abiotici, con i quali possono essere confusi.

Si tratta, in particolare di:

- a) infezioni da accartocciamento fogliare (GLR) causato da diversi closterovirus (*Grapevine leafroll-associated viruses* = GLR-aVs);
- b) infestazioni di cicaline floemomize come *Empoasca vitis*, al Nord e *Jacobiasca lybica*, al Sud;
- c) carenze e squilibri nutrizionali dipendenti dal terreno di coltivazione.

Elementi utili per distinguere tra i possibili agenti eziologici della sindrome sono i seguenti:

- *Infezioni da legno nero* - Giallume o arrossamento delle foglie si manifestano all’inizio della primavera e la colorazione – gialla o rossa – è di intensità particolarmente viva. Essa presenta, inoltre, configurazione tipica sia perinervale (giallume), sia internervale (arrossamento), in quest’ultimo caso delimitata nettamente da nervature secondarie o inferiori. Le alterazioni cromatiche sono spesso seguite da necrosi della lamina. L’accartocciamento fogliare si manifesta in tarda primavera accentuandosi progressivamente e interessando più o meno simultaneamente tutta la pianta e foglie di varia età.



**1. Accartocciamento e ingiallimento perinervale**  
Foto M. Conti



**2. Sintomi di arrossamenti settoriali nelle foglie**  
Foto M. Conti



**3. Sintomi di decolorazioni in foglia di Sangiovese**  
Foto P. Braccini



**4. Sintomo di arrotolamento a triangolo**  
Foto P. Braccini



**5. Sintomi di mancata lignificazione, necrosi e distacco della lamina fogliare** Foto P. Braccini



**6. Necrosi e mancata lignificazione**  
Foto M. Conti



**7. Sintomo di sviluppo anomalo del germoglio**  
Foto M. Conti



**8. Arrossamento e mancata lignificazione**  
Foto M. Conti



**9. Mancata lignificazione**  
Foto M. Conti



**10. Pustole nere nel tralcio**  
Foto C. Parrini



**11. Sintomi di accartocciamento fogliare**  
Foto M. Conti



**12. Sintomi di decolorazioni in foglie di vitigno rosso**  
Foto P. Braccini

- *Infezioni da GLR-aVs* - I primi sintomi di ingiallimento o arrossamento compaiono a fine primavera/inizio estate e presentano andamento doppiamente tipico: ‘*centripeto*’ sulle singole foglie, iniziando dal margine ed estendendosi verso il centro, ed ‘*acropeto*’ sui tralci poiché sono colpite prima le foglie più vecchie, basali, e poi quelle via via più giovani. Le alterazioni cromatiche si diffondono su tutta la lamina fogliare in modo uniforme, senza aspetti tipici né delimitazioni nette; inoltre, quando tutta la foglia ne è interessata, le nervature conservano colorazione verde. Non si riscontra mai la comparsa di necrosi fogliari.
- *Infestazioni di cicaline* - Le decolorazioni fogliari e l'accartocciamento della lamina si manifestano in piena estate e possono interessare anche soltanto in parte la vegetazione di singole piante. Ingiallimento e arrossamento si estendono sulla lamina fogliare gradualmente, iniziando dai margini, e in modo uniforme. Altri indizi caratteristici delle infestazioni da cicaline sulla vite sono: necrosi di tratti delle nervature dovuta alle punture di suzione e presenza di esuvie, residue delle mute compiute dagli insetti, sulla pagina inferiore delle foglie.
- *Carenze nutrizionali* - I sintomi consistono soprattutto in decolorazioni delle foglie che interessano tutta la vegetazione delle singole piante – più raramente anche accartocciamento fogliare – e colpiscono tipicamente vaste zone del vigneto, non piante o gruppi di piante isolate. In casi di questo genere, inoltre, sintomi di clorosi, malformazioni e disturbi della crescita sono osservabili anche sulla vegetazione infestante del vigneto. Va ricordato che anche improvvisi abbassamenti termici possono causare sulla vite accartocciamento e arrossamento fogliare che, nel caso specifico, coinvolge tutte le piante all'interno di ampie zone e la loro intera vegetazione.

Se gli elementi presi in considerazione consentono di distinguere con buona approssimazione i sintomi del LN da quelli dovuti ad altri agenti biotici e abiotici, altrettanto non è possibile relativamente ai sintomi indotti sulla vite da fitoplasmi diversi che, come premesso, non sono tra loro distinguibili. Tale situazione è ulteriormente complicata dal fatto che infezioni ‘miste’, vale a dire dovute alla presenza simultanea di fitoplasmi diversi nella stessa pianta, sono del tutto comuni in condizioni naturali (Sfalanga *et al.*, 1999; Marzachì *et*

*al.*, 2001). Ciò malgrado, un tentativo di caratterizzare e individuare, nell'ambito della sindrome su vite, uno o più sintomi rivelatori della presenza di un fitoplasma piuttosto che di un altro è stato condotto con due studi successivi (Morone *et al.*, 2001; Marzachì *et al.*, 2001). Tra dieci sintomi distinti presi in considerazione, l'arrossamento o ingiallimento perinervale e il mancato germogliamento del capo a frutto sono risultati quelli più frequentemente associati a FD. Nel caso di viti con infezione da LN, l'accartocciamento infero e l'ispessimento della lamina fogliare e, in minor misura, l'ingiallimento o arrossamento perinervale sono stati i sintomi rilevati con maggior frequenza (Marzachì *et al.*, 2001) (foto 11-12). Questi risultati hanno comunque confermato che la diagnosi molecolare è mezzo indispensabile per identificare con sicurezza i fitoplasmi agenti delle infezioni su vite, caso per caso. Criterio di un qualche valore indicativo rimane la presenza sul territorio, o meno, della cicalina *S. titanus*, vettore specifico del fitoplasma agente causale di FD: dove la cicalina non è presente, nella grande maggioranza dei casi i sintomi di giallume sono imputabili a LN o, più raramente, a infezioni da fitoplasmi meno comuni sulla vite, come l'agente del giallume dell'astro (AY) e i pochi altri individuati anche in Italia (Bertaccini *et al.*, 1996; Sfalanga *et al.*, 1999; Conti, 2001). Dove *S. titanus* è presente, come in tutta la Valle Padana ad esempio, le infezioni da fitoplasmi della vite sono dovute sovente a FD senza escludere gli altri patogeni citati.

## 8.2 Epidemiologia

Alberto Alma, Piero Braccini, Maurizio Conti

Le vie di trasmissione dei fitoplasmi finora conosciute sono quattro, due ben note e accertate, e due che richiedono approfondimenti conoscitivi. Sono vie certe di trasmissione la moltiplicazione agamica di materiale vegetale infetto e gli insetti vettori che, nel caso dei giallumi della vite, sono esclusivamente cicaline (altri fitoplasmi sono trasmessi da psille, come gli agenti della moria del pero o *Pear decline*, e degli scopazzi del melo o *Apple proliferation*, ad esempio). Le altre due possibilità riguardano la trasmissione per seme, della quale restano da precisare l'entità e la frequenza nell'ambito di diverse combinazioni fitoplasma/pianta ospite (Khan *et al.*, 2002), e la trasmissione transovarica negli insetti vettori, con passaggio del fitoplasma da femmine infette alla progenie, anche questa verificata con esito positivo in un



**13. Sintomi in Chardonnay**

Foto P. Braccini



**14. Sintomi fogliari in Barbera**

Foto G. Bosio



**15. Sintomi in Dolcetto**

Foto G. Bosio

paio di combinazioni fitoplasma/vettore (Danielli *et al.*, 1996; Alma *et al.*, 1997; Kawakita *et al.*, 2000; Hanboonsong *et al.*, 2002), (foto 13).

Per quanto riguarda fitoplasmi del gruppo stolbur *sensu lato*, valgono sia la trasmissione per propagazione di piante infette sia mediante vettori. La prima è stata oggetto di un'accurata indagine sperimentale per verificarne le modalità e l'incidenza (Osler *et al.*, 1997). Gemme di Chardonnay (nesti autoindicatori) provenienti da viti sane, da viti asintomatiche di un vigneto con tasso di infezione da BN trascurabile e da viti affette da BN sono state innestate su portinnesti sani. Le barbatelle innestate, suddivise in tre tesi diverse, sono state mantenute sotto osservazione per 5 anni giungendo alla conclusione che BN è effettivamente trasmesso per innesto, seppure solo in percentuale inferiore al 3%. Si è inoltre accertato che l'attecchimento degli innesti è condizionato dallo stato sanitario delle marze, nel senso che quelle sane garantiscono una percentuale di attecchimento più elevata, e che il periodo di incubazione di BN in viti giovani oscilla da un minimo di circa cinque mesi a un massimo non superiore ai due anni (Osler *et al.*, 1997).

La trasmissione dei fitoplasmi con insetti avviene in modo persistente-propagativo ed è caratterizzata da tre fasi distinte ma interdipendenti, corrispondenti ad acquisizione, latenza e inoculazione. L'insetto acquisisce i fitoplasmi alimentandosi su piante infette e diviene infettivo soltanto dopo 2-3 settimane (periodo di latenza) quindi, tornando a nutrirsi su altre piante può inoculare il patogeno e causare nuove infezioni. La capacità di acquisire fitoplasmi da piante infette è maggiore nelle forme giovanili (neanidi e ninfe) che negli adulti dell'insetto; la ritenzione dell'infettività non è influenzata da eventuali mute e il vettore può rimanere infettivo anche per tutta la vita. Il fitoplasma trova infatti localizzazione intracellulare e si moltiplica nel vettore, garantendo la durata della carica di inoculo. In Germania, in Francia e in Italia è stato dimostrato che lo *H. obsoletus*, cixiide, è vettore di VK, BN e LN (Maixner, 1994; Sforza *et al.*, 1998; Alma *et al.*, 2002). L'ampia diffusione geografica delle tre ampelopatie e di altre fitoplasmosi tipo stolbur, pure trasmesse da *H. obsoletus*, non può trovare riscontro in questo solo vettore che per giunta non è specie così abbondante e ha allo stato adulto un periodo di attività trofica piuttosto limitato in pieno campo (Alma e Conti, 2002). Per di più si è osservato che BN si diffonde naturalmente in aree geografiche dove lo *H. obsoletus* non è presente – ad esempio, in alcune zone della Spagna – fatto che lascia pochi dubbi circa l'esistenza di altri vettori, tra i quali potrebbe rien-

trare il cixiide *Pentastiridius beieri*, individuato in Francia come vettore dello stolbur a piante erbacee (Boudon-Padieu, 2000). Sul coinvolgimento di altre cicaline diffuse comunemente nell'agroecosistema vigneto, oltre alla decina di specie polifaghe già indicate come probabili vettori, recenti ricerche hanno evidenziato attraverso la diagnosi molecolare che individui del cicadellide *Goniagnathus guttulinervis* in Sardegna e del cixiide *Reptalus panzeri* in Ungheria sono risultati positivi al fitoplasma dello stolbur (Garau *et al.*, 2004; Palermo *et al.*, 2004), (foto 14).

Lo stesso spettro di ospiti dei fitoplasmii tipo stolbur, ampio ed eterogeneo, suggerisce l'esistenza di diversi vettori sebbene *H. obsoletus* sia una specie abbastanza polifaga (Sforza *et al.*, 1998; Alma e Conti, 2002), ma con una netta preferenza, negli areali viticoli del Nord, per l'ortica sulla quale completa il proprio sviluppo (Alma *et al.*, 1988). Le indagini condotte nella zona dei Colli Tortonesi, la prima interessata dall'epidemia di GY in Piemonte, in particolare, hanno rilevato mediante saggi diagnostici molecolari la presenza di fitoplasmii del gruppo stolbur sia in viti affette da LN, sia in piante di erba medica (*Medicago sativa*) e di convolvolo (*C. arvensis*) situate nelle immediate vicinanze dei vigneti infetti (Conti, 2001). I casi di infezione erano numerosi e i sintomi molto evidenti: nanismo e malformazioni fogliari su erba medica; giallume, scopazzi e microfillia su convolvolo; decolorazioni, necrosi e accartoccamento delle foglie sulle viti.

Le osservazioni di cui sopra confermano che LN è causato da un fitoplasma patogeno non-specifico della vite, trasmesso da vettore(i) non strettamente ampelofago(i). Tale situazione epidemiologica – che si differenzia nettamente da quella relativa a FD, indotta da un fitoplasma patogeno specifico della vite trasmesso da una cicalina (*S. titanus*) strettamente ampelofaga – si riflette sul ciclo dell'agente eziologico del LN che coinvolge diverse piante ospiti, oltre alla vite, e presumibilmente diversi vettori, oltre a *H. obsoletus*. La vite stessa e diverse piante ospiti di specie perenni o perennanti (rovo, piantaggine, erba medica, fico etc.: cfr. Sforza *et al.*, 1998) costituiscono sorgenti di infezione naturali dalle quali ha luogo la diffusione del fitoplasma tramite vettori. La moltiplicazione agamica di soggetti e portinnesti di vite infetta da LN, ma priva di sintomi evidenti e risultata negativa ai controlli diagnostici cui dovrebbe sottostare tutto il materiale da propagazione, rappresenta una via alternativa di diffusione della fitoplasmosi. Sebbene la trasmissione di LN per innesto sia risultata – nelle condizioni citate (Osler *et*

*al.*, 1997) – non superiore al 3%, ciò è ampiamente sufficiente per garantire un ulteriore mezzo di propagazione della malattia in natura e, soprattutto, la sua diffusione a lunga distanza tramite materiale vivaistico infetto commercializzato (foto 15).

### 8.3 Diagnosi di legno nero

Luciana Galetto, Cristina Marzachi

Un'accurata diagnosi della malattia prevede l'impiego di metodi che rilevino la presenza del fitoplasma in modo più preciso e sensibile rispetto alla semplice osservazione dei sintomi. La concentrazione del fitoplasma nell'ospite è infatti basso e variabile e spesso anche campioni asymptomatici risultano positivi alla diagnosi (Adams *et al.*, 2001).

#### Metodi sierologici

Negli ultimi 15 anni sono stati prodotti numerosi anticorpi diretti contro i fitoplasmii, sia policlonali che monoclonali. Essi sono altamente specifici e non esiste un unico antisiero che reagisca contro tutte le fitoplasmosi, contrariamente a quanto accade invece con i *primers* universali per i fitoplasmii utilizzabili in PCR (Cousin e Boudon-Padieu, 2001). Alcuni tra questi lavori hanno messo a punto sistemi di diagnosi sierologica per il fitoplasma stolbur, il microrganismo associato al legno nero.

Cousin e altri (1989), immunizzando topi con la frazione proteica di membrana estratta da piante infette di tabacco e vinca, hanno prodotto un antisiero policlonale contro il fitoplasma stolbur. Tale siero è stato utilizzato per l'osservazione con microscopio a fluorescenza di microsezioni di tessuto floematico preincubate dapprima con l'anticorpo anti-stolbur e poi con siero anti-IgG di topo coniugato con fluoresceina isotiocianato (FITC).

Garnier *et al.* (1990) hanno prodotto in seguito l'anticorpo monoclonale MA 2A10 diretto contro la maggior proteina di membrana di stolbur a partire da frazioni arricchite in fitoplasma ottenute da pomodori infetti.

Lo stesso anticorpo monoclonale MA 2A10 è stato impiegato in test DAS-ELISA (*Double-Antibody Sandwich - Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay*) e in saggi immunologici di microscopia a fluorescenza su diverse specie di piante (soprattutto *Solanaceae*) e di insetti per identificare nuovi ospiti e vettori del fitoplasma stolbur (Fos *et al.*, 1992) e in seguito è stato utilizzato con successo nella diagnosi di legno nero su campioni infetti di vite in saggi DAS-ELISA (Kuszala, 1996).

Seguendo un approccio diverso, mediante l'ingegnerizzazione dei domini variabili delle catene pesante (VH) e leggera (VL) dello stesso anticorpo MA 2A10 un *scFv* (frammento variabile a singola catena) è stato clonato ed espresso in *Escherichia coli* (Le Gall *et al.*, 1998). Questa immunoglobulina ingegnerizzata ha dimostrato la stessa efficienza della proteina nativa nel riconoscimento dell'antigene sia nei test ELISA, sia nei saggi immunologici di microscopia a fluorescenza effettuati su piante di pomodoro e tabacco. L'anticorpo ingegnerizzato inoltre ha funzionato come planticorpo: il gene *scFv* è stato inserito in piante di tabacco che, dopo la trasformazione, crescevano prive di sintomi nonostante fossero state innestate con marze infette con stolbur (Le Gall *et al.*, 1998).

### Metodi molecolari

Lo sviluppo di tecniche molecolari ha incrementato notevolmente la sensibilità dell'identificazione dei fitoplasmi. I protocolli di diagnosi prevedono, in linea generale, l'estrazione del DNA totale da tessuti vegetali sintomatici o da insetti vettori. Molti studi si sono concentrati sulle procedure di estrazione al fine di aumentare la concentrazione di DNA fitoplasmatico e ridurre la presenza di inibitori enzimatici, polifenoli e polisaccaridi, presenti nei tessuti vegetali e negli insetti vettori (Marzachi e Boarino, 2002). Strategie di arricchimento della concentrazione di fitoplasma (Kirkpatrick *et al.*, 1987) e protocolli di estrazione del DNA a partire da tessuto vegetale fresco mediante un tampone contenente Cetyl-trimethyl-ammonium-bromide (CTAB) (Doyle e Doyle, 1990; Daire *et al.*, 1997), combinati insieme (Ahrens e Seemüller, 1992), sono risultati la procedura più sensibile in studi comparativi sull'efficienza dei metodi di estrazione (Palmano, 2001; Pasquini *et al.*, 2001). Anche a partire da insetti vettori, il sistema più efficiente è risultato essere l'arricchimento della concentrazione di DNA fitoplasmatico abbinato all'utilizzo del tampone contenente CTAB (Marzachi *et al.*, 1998; Bosco *et al.*, 2002).

Sul DNA così ottenuto possono essere eseguite reazioni di ibridazione molecolare, la PCR o tutte le altre tecniche da questa derivate.

### Ibridazione molecolare

L'ibridazione del DNA totale, estratto da piante e insetti, viene effettuata con sonde marcate, composte da sequenze di acidi nucleici complementari a porzioni del genoma di fitoplasmi. Il rilevamento dell'ibrido può avvenire con metodi radioattivi o con metodi immunoenzimatici. L'ibridazione

può essere effettuata su porzioni di tessuto impresse su membrana con l'applicazione di una lieve pressione (*tissue printing*), oppure mediante trasferimento su membrana di DNA totale parzialmente purificato (*dot blot*).

A partire da un tratto di DNA non ribosomico del fitoplasma stolbur Marzachi e altri (2000) hanno sintetizzato una sonda a singola elica di RNA marcata con digossigenina. Essa è stata utilizzata con successo nella diagnosi di stolbur in prove di *tissue printing* effettuate su piante di pomodoro sintomatiche. In questa applicazione è però necessario che nel tessuto vegetale vi sia un titolo di fitoplasma elevato abbastanza da risultare rilevabile anche senza un particolare arricchimento dell'estratto da analizzare.

L'ibridazione molecolare è stata sfruttata a fini diagnostici con sonde basate su diverse sequenze: una non ribosomica universale (Davis *et al.*, 1992a, 1992b), una plasmidica universale (Goodwin *et al.*, 1994; Bertin *et al.*, 2003) e una ribosomica universale (Bertin *et al.*, 2003). È stato anche dimostrato che l'ibridazione *dot blot* degli ampliconi migliora la sensibilità dell'amplificazione diretta (Marzachi *et al.*, 2000; Bertin *et al.*, 2003).

### PCR convenzionale

La PCR è una metodica affermata per il rilevamento di patogeni infettivi poiché permette diagnosi qualitative, del tipo presenza/assenza, precise e sensibili, anche nel caso di titolo molto basso di patogeni, non rilevabili con tecniche sierologiche e di ibridazione molecolare (Lee e Davis, 1992). Le coppie di *primers* utilizzate per l'identificazione specifica dei fitoplasmi si possono distinguere in universali e gruppo-specifiche. I *primers* universali amplificano il DNA del fitoplasma presente nell'ospite vegetale o nell'insetto vettore, indipendentemente dal gruppo tassonomico d'appartenenza. I *primers* gruppo-specifici, invece, riconoscono e amplificano solo il DNA di fitoplasmi appartenenti a un determinato gruppo tassonomico. Spesso nella diagnosi di fitoplasmi si utilizzano procedure che sfruttano la reazione della PCR, ma ne incrementano la sensibilità o la specificità: PCR *nested*, PCR-RFLP e PCR-*dot blot*. Esse rappresentano le tecniche d'elezione anche nella diagnosi di legno nero.

La sensibilità della PCR può essere migliorata nella PCR *nested*, in cui gli ampliconi derivati da una prima PCR, definita "diretta", vengono diluiti e utilizzati per una seconda reazione di amplificazione. La sequenza dei *primers* utilizzati nella reazione *nested* è interna a quella dei due inneschi utilizzati in PCR diretta. La sensibilità complessiva, grazie alla doppia amplificazione, aumenta note-

**Tab. 1 - Nome, sequenza, localizzazione genomica e riferimento bibliografico dei principali primers specifici per il fitoplasma stolbur**

Primer	Sequenza 5'-3'	Localizzazione genomica	Bibliografia
M1	ACTTATTTTACAACAACGG	Non ribosomici	Marzachi <i>et al.</i> , 2000
P8	TGTCTAATTCTCCTTCAGGG		
R16(I)F1	TAAAAGACCTAGCAATAGG	Ribosomici	Lee <i>et al.</i> , 1994
R16(I)R1	CAATCCGAAGTGGACTGT		
fStol	GCCATCATTAAGTTGGGGA	Ribosomici	Maixner <i>et al.</i> , 1995
rStol	AGATGTGACCTATTTTGGTGG		
STOL4f	TTTAGCGATATTGGGAGAA	Non ribosomici	Daire <i>et al.</i> , 1997
STOL4r	ATCCTTGAATTCTTTGACG		
STOL11f2	TATTTTCTAAAATTGATTGGC	Non ribosomici	Daire <i>et al.</i> , 1997
STOL11r1	TGTTTTTGCACCGTTAAAGC		
StolFw	AACCGCTCGCAAACAGC	Non ribosomici	Galetto <i>et al.</i>
StolRev	ATTAGCGCCTTAGCTGTG		[inviato per la pubblicazione]

volmente, sebbene la PCR *nested* sia più facilmente soggetta a contaminazioni tra campioni diversi e produca, talvolta, falsi positivi.

La PCR-RFLP prevede un'analisi dei polimorfismi generati dalla digestione, con uno stesso enzima di restrizione, dell'amplicone prodotto da una PCR diretta con *primers* universali a partire dal DNA totale di fitoplasmi appartenenti a gruppi tassonomici diversi. Il confronto tra i profili ottenuti permette di distinguere e classificare il patogeno rilevato (Lee *et al.*, 1998).

La PCR-dot blot consiste nell'ibridazione molecolare a macchia degli ampliconi prodotti in PCR con sonde complementari.

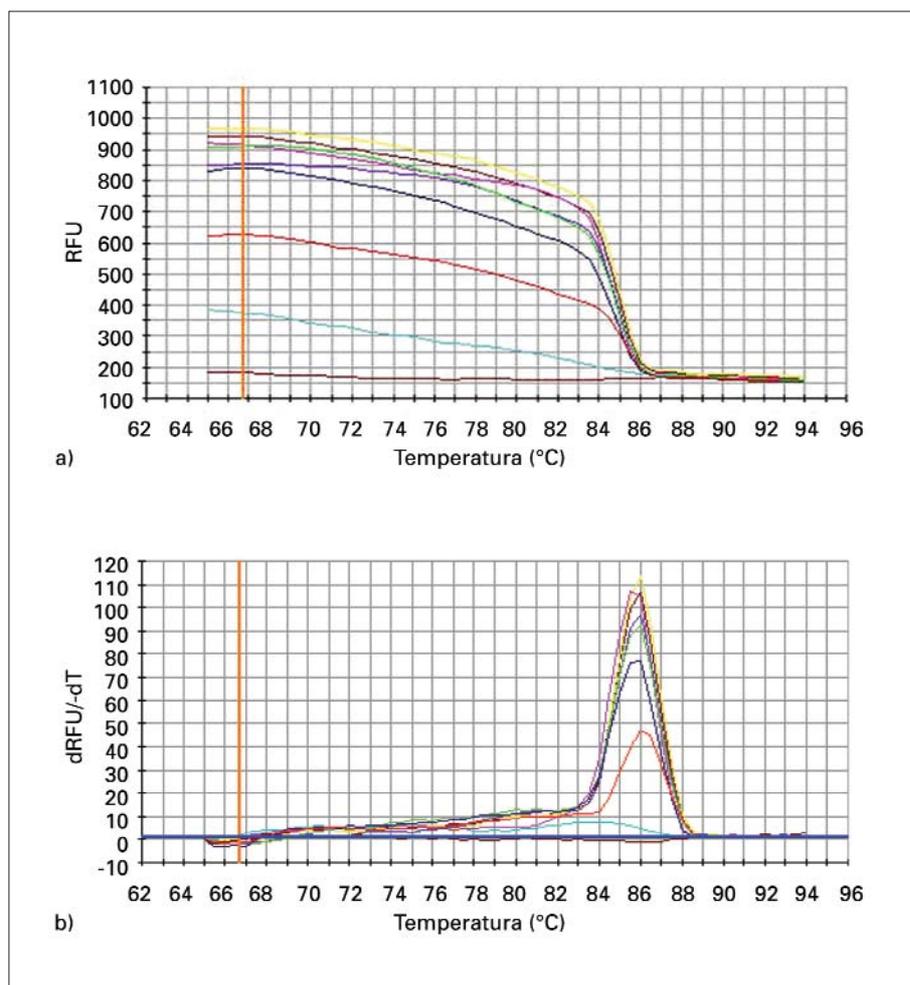
Tra i metodi di diagnosi molecolare di legno nero uno dei più sensibili è proprio una PCR-dot blot, che prevede l'amplificazione con i *primers* non ribosomici M1/P8, specifici per i fitoplasmi del gruppo 16SrXII (*tab. 1*), seguita dall'ibridazione degli ampliconi con una sonda che riconosce un tratto di sequenza interna a quella dei *primers* (Marzachi *et al.*, 2000).

La diagnosi di legno nero può inoltre essere effettuata mediante una reazione di PCR *nested*, con i *primers* ribosomici gruppo-specifici R16(I)F1/R16(I)R1 (Lee *et al.*, 1994) (*tab. 1*), sul prodotto di amplificazione ottenuto con *primers* universali, quali P1/P7 (Deng e Hiruki, 1991; Smart *et al.*, 1996) o R16F2n/R16R2 (Gundersen e Lee, 1996) per citarne solo alcuni. Con questo procedimento è possibile individuare indifferentemente i fitoplasmi appartenenti ai gruppi tassonomici 16SrI e 16SrXII. È quindi necessario effettuare ancora un'analisi di restrizione sul prodotto di amplificazione di questa PCR *nested*, per poter

identificare con certezza il gruppo tassonomico d'appartenenza. È possibile distinguere il gruppo 16SrI dal 16SrXII utilizzando gli enzimi *MseI* o *TaqI*. Nel caso l'analisi RFLP sia effettuata su ampliconi ottenuti con i *primers* universali ribosomici citati prima, è consigliabile utilizzare l'enzima di restrizione *MseI* perché presenta per il gruppo tassonomico 16SrV (cui appartiene flavescenza dorata) un profilo diverso da quello mostrato dai gruppi 16SrI e 16SrXII (Lee *et al.*, 1998). Una procedura che preveda complessivamente un'amplificazione diretta, una *nested* e un'analisi RFLP, risulta molto sensibile e precisa, ma laboriosa e soggetta a rischio di contaminazioni.

Un'altra possibilità diagnostica per LN è l'impiego dei *primers* ribosomici gruppo-specifici fStol/rStol (*tab. 1*) in PCR convenzionale diretta (Maixner *et al.*, 1995). Questo procedimento, svolto in unico passaggio, permette di diagnosticare LN senza dover ricorrere alla PCR *nested*, sebbene con efficienza inferiore e non sempre costante.

Due coppie di *primers* non ribosomici specifiche per stolbur, STOL4f/r e STOL11f2/r1 (*tab. 1*), sono state utilizzate con successo nella diagnosi di legno nero su campioni sintomatici di vite provenienti da varie parti d'Europa. È stato inoltre possibile impiegare gli inneschi STOL11f2/r1 in PCR multiplex con i *primers* non ribosomici FD9f/r specifici per flavescenza dorata, permettendo così la diagnosi di entrambe le fitoplasmi in unica reazione (Daire *et al.*, 1997). Questa procedura è risultata però poco sensibile nell'analisi di materiale di campo. Sono state pertanto costruite le nuove coppie di *primers* FD9f3b/r2 e STOL11f3/r2 interne rispettivamente a FD9f/r e a STOL11f2/r1 per



**Fig. 1 - Curva di melting.**  
**a) decadimento della fluorescenza data dal SYBR® Green I raggiunta la temperatura di melting;**  
**b) derivata prima negativa e visualizzazione del picco di melting**

effettuare una PCR *nested* multiplex sull'amplificato di PCR diretta (Clair *et al.*, 2003).

Recentemente è stata utilizzata la caratterizzazione dei ceppi di stolbur mediante PCR-RFLP nel tentativo di chiarire il completo ciclo biologico del fitoplasma. Sono stati analizzati numerosi esemplari di *H. obsoletus* e molti campioni di viti e di altri ospiti vegetali spontanei, tutti raccolti in campo in diverse aree della Germania. L'amplificazione è stata effettuata con sei diverse coppie di *primers*, di cui cinque non ribosomiche, e la digestione dell'amplificato con diversi enzimi ha permesso la caratterizzazione in tre differenti profili di restrizione (Langer e Maixner, 2004).

#### *Real-time PCR*

La *Real-time* PCR (R-PCR), evoluzione della PCR convenzionale (Higuchi *et al.*, 1992), utilizza un sistema ottico per il rilevamento della fluorescenza installato su un normale termociclatore. La principale caratteristica della R-PCR è la possibilità di seguire, in tempo reale, la produzione dell'amplicone a partire dall'acido nucleico presente nel

campione analizzato, seguendo la reazione durante ogni ciclo di amplificazione. La R-PCR permette inoltre di misurare la quantità di DNA bersaglio inizialmente presente nel campione analizzato. I vantaggi della R-PCR quindi sono: la rapidità del saggio, l'alto grado di informazione, l'ottenimento di una quantificazione espressa con precisi dati numerici, l'elevata quantità di campioni analizzabili in una singola reazione, la riduzione delle contaminazioni, l'aumento della ripetitività, la possibilità di effettuare reazioni multiplex e l'abolizione di manipolazioni post-PCR (Schmittgen, 2001).

Il rilevamento dell'amplicone in R-PCR può essere aspecifico, se effettuato mediante un colorante fluorescente che si lega al DNA, oppure specifico, se compiuto per mezzo di una sonda marcata, che si appaia a un tratto complementare della sequenza amplificata. Il SYBR® Green I è un colorante fluorescente che si intercala, in modo aspecifico, alla doppia elica di DNA e non appena si lega all'acido nucleico emette un segnale di fluorescenza da 50 a 100 volte maggiore rispetto a quello generato nella condizione normale. Con il proce-

dere della reazione la quantità di amplicone aumenta e, con questa, anche il segnale emesso o dal colorante o dalla sonda marcata. Il rilevamento avviene al termine di ogni ciclo di polimerizzazione.

Il SYBR® Green I non è in grado di discriminare le molecole di DNA sintetizzate nella stessa reazione, che sono però caratterizzabili con la curva di *melting*. Infatti, sebbene questo colorante non sia specifico, i prodotti dell'amplificazione possono essere identificati in base alla loro lunghezza e composizione in basi, che ne determinano la temperatura di denaturazione (Ririe *et al.*, 1997). La sonda invece è complementare alla sequenza dell'amplicone e si appaia esclusivamente al DNA bersaglio.

Nelle reazioni con il SYBR® Green I la curva di *melting* viene effettuata, direttamente nel termociclatore, al termine dell'amplificazione. Il protocollo prevede una denaturazione di tutto il DNA presente nei pozzetti, seguita da una rinaturazione completa e da un'incubazione a una temperatura progressivamente e gradualmente più alta di 0,5°C a ogni ciclo. In questo modo vengono raggiunte, una dopo l'altra, le varie temperature di *melting* dei doppi filamenti di DNA eventualmente presenti: la specificità degli ampliconi viene quindi valutata sulla base della temperatura alla quale la loro doppia elica si separa. Una volta raggiunta la temperatura di *melting* del determinato amplicone, la fluorescenza data dal SYBR® Green I, che si lega in modo aspecifico alle doppie eliche di DNA, decade bruscamente. Analizzata, mediante il *software*, la derivata prima negativa di questo decadimento, la temperatura di separazione delle doppie eliche è visualizzabile come un picco (*figg. 1a-1b*). Ogni prodotto di amplificazione ha un suo preciso picco di *melting* che dipende dalla lunghezza del frammento e della sua composizione in basi azotate. Viene confrontato quindi il picco di ogni campione con quello ottenuto dai controlli positivi, valutando in questo modo la specificità dell'amplificazione.

È stato recentemente messo a punto un sistema diagnostico specifico per il legno nero in R-PCR con SYBR® Green I in grado di rilevare il fitoplasma nel DNA totale estratto sia da viti di campo che da insetti vettori *H. obsoletus* (Galetto *et al.*, *submitted*). I *primers* utilizzati, StolFw/StolRev (*tab. 1*), sono stati disegnati su una sequenza non ribosomica di stolbur (Marzachi *et al.*, 2000) e le condizioni di reazione sono state ottimizzate in PCR convenzionale. L'efficienza di questo metodo diagnostico è stata confrontata con la PCR-dot blot (Marzachi *et al.*, 2000) ed è risultata pari al 90% circa, sulle viti, e al 100% sugli esemplari di *H. obsoletus* analizzati. È risultata però indispensabile l'analisi della curva di *melting* per individuare falsi

positivi dovuti ad amplificazioni aspecifiche, che spesso si verificano utilizzando materiale di campo.

### Conclusioni

Tra le metodiche diagnostiche la PCR *nested*, sebbene sia laboriosa e a rischio di contaminazioni, rappresenta la tecnica più sensibile nel rilevamento dei fitoplasmi (Bertin *et al.*, 2003) ed è la principale utilizzata per la loro diagnosi in specie vegetali erbacee e arboree (Lee *et al.*, 1998; 2000). Questa considerazione generale per i fitoplasmi vale anche per la diagnosi di legno nero, anche se va detto che i metodi di PCR-dot blot e R-PCR sopra descritti si avvicinano molto alle *performance* diagnostiche raggiunte dalla PCR *nested*.

L'identificazione di stolbur, e in linea generale quella di tutti i fitoplasmi, comporta ancora diverse difficoltà dovute alle peculiarità intrinseche delle infezioni, quali la localizzazione floematica del patogeno e, particolarmente nelle specie arboree, la bassa concentrazione e la distribuzione irregolare del microrganismo.

Un ulteriore aspetto da tenere presente nella diagnosi del legno nero in vite è dato dal frequente fenomeno dell'infezione mista fra fitoplasmi dei gruppi 16SrV e 16SrXII. Per ottenere un esito diagnostico completo è pertanto necessario effettuare tutte le opportune diagnosi gruppo-specifiche.

## 8.4 Interventi di lotta

Maurizio Conti, Alberto Alma

Gli interventi di lotta contro LN non si discostano da quelli correntemente impiegati contro gli agenti patogeni intracellulari delle piante, ossia virus, viroidi e fitoplasmi. Trattamenti terapeutici delle infezioni di questo genere utilizzabili in pieno campo non sono noti, fatta eccezione proprio per quelle da fitoplasmi che sono curabili con antibiotici (tetracicline) il cui impiego in agricoltura è però vietato dalla legge. Pertanto le possibilità di difesa si basano soprattutto sulla prevenzione delle infezioni che viene perseguita tramite i seguenti diversi tipi di azione:

### Controllo sanitario del materiale da propagazione

Questa prassi è di importanza primaria nella lotta alle fitoplasmosi poiché la moltiplicazione agamica di piante infette risulta nella produzione di cloni infetti in alta o altissima percentuale. Il rischio

potrebbe sembrare facilmente superabile perché pare improbabile che piante malate vengano destinate alla propagazione se non si considera il fatto che la presenza di infezioni può essere poco evidente più spesso di quanto si possa pensare. Sono noti fenomeni di ‘mascheramento’ (remissione dei sintomi) e di ‘infezione latente’: nel primo caso, i sintomi eventualmente presenti su piante infette tendono ad attenuarsi e scomparire del tutto per periodi di tempo più o meno lunghi in seguito a mutate condizioni ambientali (ad esempio, per sensibili aumenti della temperatura); nel secondo caso, le piante infette non presentano alcun tipo di sintomi sin dall’inizio dell’infezione. Questo comportamento è generalmente associato a caratteri di ‘tolleranza’ alla malattia caratteristici della specie o della cultivar in questione. È noto, ad esempio, che vitigni di origine americana e loro ibridi correntemente utilizzati come portinnesti possono essere affetti da fitoplasmi senza presentare sintomi di alcun genere. Anche tra i più comuni vitigni a uva da vino coltivati in Italia esistono, d’altra parte, cultivar più e meno sensibili, che reagiscono alle infezioni con sintomi di diversa intensità (Belli *et al.*, 1997).

I saggi diagnostici attualmente disponibili, seppure di elevata sensibilità, non garantiscono purtroppo il riconoscimento di tutte le piante infette nel senso che, anche nei casi di sintomatologie manifeste e – ancor più – di campioni asintomatici, non sempre danno esito positivo (Del Serrone e Barba, 1996; Marzachi *et al.*, 2001). La loro utilizzazione nel controllo delle piante di vite in selezione clonale e poi delle piante capostipiti consente comunque di individuare la grande maggioranza delle infezioni, riducendo l’incidenza finale sulle coltivazioni in modo determinante. Va poi ricordato che sensibilità e affidabilità della diagnosi molecolare miglioreranno ulteriormente nei prossimi anni, grazie al continuo progredire delle biotecnologie di laboratorio, anche se una ‘soglia’ di concentrazione al di sotto della quale il patogeno rimarrà non rilevabile esisterà sempre.

#### *Risanamento in laboratorio*

Nel caso in cui, nell’ambito di un determinato vitigno, non sia possibile reperire piante esenti da infezione o si renda necessario, ad esempio, recuperare un particolare clone infetto, è possibile ricorrere a trattamenti di laboratorio che ne consentono il risanamento, tra i quali la termoterapia e la coltura di tessuti sono i più ampiamente impiegati. La termoterapia consiste nell’esposizione a temperature moderatamente alte (35-38°C) di piante in vegetazione, ma può anche essere applicata su materiale

vegetale in dormienza, come semi, bulbi, tuberi e altri organi di moltiplicazione vegetativa. Nel caso della vite viene normalmente applicata su piante in vegetazione, in vaso, oppure su tralci prelevati al termine del periodo vegetativo, nel qual caso il trattamento viene effettuato in acqua calda raggiungendo temperature più elevate (45°C e oltre). Va da sé che più è elevata la temperatura del trattamento e più si prolunga il tempo di esposizione, maggiori sono le fallanze risultanti nel materiale trattato. Il trattamento termoterapeutico in acqua calda è stato a lungo sperimentato in Francia contro FD ed è attualmente applicato a tutto il materiale da propagazione per eliminare le infezioni da fitoplasmi. Correlando le temperature dei trattamenti alla durata dei tempi di esposizione è stata tracciata una curva che ne puntualizza i valori efficaci per eliminare l’infezione fitoplasmatica, ad esempio 40°C per 600 minuti, 45°C per 100 minuti, 50°C per circa 25 minuti etc.

L’utilizzazione della coltura di tessuti per il risanamento della vite si è avuta con le ricerche condotte all’inizio degli anni ottanta del secolo scorso (Barlass *et al.*, 1982) le quali hanno dimostrato che l’allevamento *in vitro* di apici vegetativi, costituiti dalla cupola meristematica e dal primo paio di abbozzi fogliari, a 27°C per 15 ore e 20°C per 9 ore – ovvero alla temperatura costante di 35°C – consentiva di ottenere plantule esenti dagli agenti di varie malattie virali e similvirali. Da allora questa tecnica è stata ampiamente utilizzata per il risanamento della vite dalle infezioni da virus, viroidi e fitoplasmi, spesso in abbinamento con la termoterapia: le piante sono prima sottoposte al trattamento termoterapeutico, quindi dai loro apici vegetativi sono prelevati gli apici meristematici che vengono fatti radicare *in vitro* trapiantando poi le giovani plantule in vaso. Tutte le piante sottoposte a risanamento, una volta raggiunto lo stadio di sviluppo appropriato, devono essere controllate individualmente per accertarne l’avvenuta guarigione in quanto i vari tipi di trattamento, abbinati o meno, non garantiscono che il patogeno sia stato eliminato dalla totalità della discendenza ottenuta.

#### *Misure di lotta agronomica*

Sono noti alcuni tipi di interventi che consentono di contrastare la diffusione di LN e talora anche di ridurre la gravità dei sintomi; per quanto non siano in genere molto efficaci, sono consigliabili perché si tratta di pratiche ecocompatibili la cui applicazione, inoltre, è di costo contenuto. Essi sono:

- Spollonatura del ‘piede’ delle viti, ovvero l’eli-

minazione dei ricacci basali, in quanto questi costituiscono fonte di nutrimento preferenziale per le cicaline e in particolar modo per le specie che si nutrono anche su piante erbacee, come *H. obsoletus*.

- Gestione dell'inerbimento naturale nel vigneto al fine di evitare la presenza di piante spontanee in grado di ospitare il vettore (i) e fungere da serbatoio per il fitoplasma.
- Inerbimento artificiale effettuato con la semina mirata di una o più essenze; pratica da preferire all'inerbimento naturale al fine di non favorire attraverso opportune scelte agronomiche e tecniche colturali la presenza nel vigneto di piante erbacee potenziali ospiti di fitoplasmi e di cicaline polifaghe potenziali vettori.
- Estirpo dei vigneti abbandonati, che possono contenere viti e piante di altre specie infette, sorgenti di infezione per i vettori.
- Scelta, per quanto possibile, dei vitigni meno sensibili all'infezione per la realizzazione di nuovi impianti. Le barbatelle dovranno essere state controllate dal punto di vista sanitario e garantite esenti da infezioni.
- Limitazione delle concimazioni azotate in vigneto poiché si è constatato che l'eccessivo rigoglio vegetativo predispone le piante alle infezioni da LN e da altre fitoplasmosi, verosimilmente perché le rende più attrattive per gli insetti vettori.
- Capitozzatura delle viti malate: il ricorso a questa pratica deve essere attuato con prudenza poiché non sempre ha indotto la remissione dei sintomi. In attesa dei risultati delle ricerche che sono in corso, nel caso si intenda utilizzare la capitozzatura è consigliabile sperimentarne gli esiti su un numero limitato di piante prima di applicarla su vasta scala.

#### *Lotta al vettore*

Se per *S. titanus* la lotta insetticida ha dato dei buoni risultati riducendo negli areali viticoli, dove viene regolarmente applicata, le popolazioni del vettore e l'incidenza della FD, al contrario finora non è stata efficace per il contenimento del vettore dell'agente causale del BN/LN (Sforza e Boudon-Padieu, 1998; Cavallini *et al.*, 2003). Pertanto, alla luce dei risultati ottenuti, delle numerose variabili bio-ecologiche ancora da indagare e delle ricerche da condurre sulle specie vettrici e sul loro reale ruolo nella diffusione del fitoplasma dello stolbur alla vite, la lotta attraverso l'impiego di insetticidi è attualmente improponibile.

## 8.5 Considerazioni conclusive

*Alberto Alma, Maurizio Conti*

I progressi conoscitivi compiuti in diversi laboratori di ricerca nazionali grazie soprattutto alle moderne metodologie di diagnosi molecolare hanno evidenziato che i giallumi presenti in Italia sono causati da fitoplasmi diversi e che l'identificazione degli agenti eziologici è indispensabile sia per comprendere l'epidemiologia di queste ampelopatie, sia per contenerne la diffusione. Si è da più parti convenuto che le gravi epidemie di GY in atto nell'Italia settentrionale siano dovute a varianti particolarmente aggressive di flavescenza dorata, ma ciò non deve portare a sottovalutare l'importanza reale del legno nero. A partire dalla sua prima individuazione, questa fitoplasmosi della vite è stata differenziata da FD perché non trasmissibile con *S. titanus* e perché tipicamente 'non epidemica'. Anche se tali elementi discriminatori sono tuttora validi, essendo LN di carattere più endemico che epidemico, non va dimenticato che accertamenti diagnostici mirati hanno messo in evidenza che dei campioni di vite con sintomi di fitoplasmosi ben il 33% nel 1999 e il 27% nel 2000 sono risultati affetti da LN (Marzachi *et al.*, 2001).

Ulteriori ricerche sono necessarie per chiarire aspetti ancora poco noti sull'etologia di *H. obsoletus*, specie eterotopa con giovani che conducono vita ipogea e adulti che vivono sulla parte epigea di dicotiledoni erbacee. Gli adulti occasionalmente si nutrono a spese della vite e possono trasmettere il fitoplasma. Il peculiare ciclo dell'insetto (Alma *et al.*, 1988), la sempre più ampia diffusione e la diversa incidenza da uno Stato all'altro di BN e di LN nelle regioni italiane interessate, inducono a ipotizzare il coinvolgimento di altre piante ospiti spontanee quali sorgenti naturali di infezione del fitoplasma (Maixner *et al.*, 2001) e di vettori diversi in grado di trasmettere l'agente eziologico alla vite e successivamente da vite a vite. È indubbio che le diverse piante ospiti del cixiide svolgono un ruolo importante nella diffusione della malattia nei vari ambienti ecologicamente differenti in cui è presente. Recenti indagini condotte in Germania hanno evidenziato come le popolazioni di *H. obsoletus* siano, almeno in parte, influenzate dalla maggiore o minore diffusione della pianta ospite preferita e come la stessa pianta infettata dal fitoplasma possa costituire o no una pericolosa sorgente d'inoculo per l'insetto vettore (Darimont e Maixner, 2001). Pertanto, una particolare attenzione, al fine di limitare le fonti d'inoculo del fitoplasma dello stolbur nelle aree viticole, deve essere rivolta alle specie che compongono la cortica erbosa degli interfilari e di

eventuali zone adiacenti non coltivate. Alcune di queste essenze possono ospitare e conservare il patogeno e, in vigneti dove *H. obsoletus* sia presente con popolazioni significative, permetterne l'occasionale acquisizione. Tuttavia, l'inerbimento controllato del vigneto utilizzando essenze non ospiti del patogeno può risultare utile per contenere attraverso una competizione naturale la presenza delle specie spontanee in grado di ospitare il fitoplasma (Maixner *et al.*, 2001). Una adeguata risposta sul coinvolgimento di altre cicaline presenti nei numerosi agroecosistemi viticoli, indagati da diversi Autori, e sull'effettivo ruolo nella trasmissione dell'agente causale di questo giallume della vite ampiamente diffuso e di sempre più crescente interesse si potrà dare solo dopo aver condotto saggi biologici in condizioni sperimentali di laboratorio.

L'epidemiologia di questa fitoplasmosi conosciuta con nomi differenti, ma indotta da uno stesso fitoplasma può variare in modo considerevole in funzione dei diversi vettori coinvolti (molti dei quali ancora per ora sconosciuti), della loro biologia, della capacità dei fitoplasmidi di colonizzare specie vegetali differenti dalla vite e dei fattori abiotici e biotici che caratterizzano gli agroecosistemi in cui viene coltivata la vite. Nuove conoscenze per poter intraprendere una adeguata gestione fitosanitaria con l'attuazione di misure di lotta efficaci e possibilmente ecocompatibili potranno derivare solo da ricerche interdisciplinari, attraverso il coinvolgimento di entomologi, fitopatologi e biotecnologi.

## Bibliografia

- ADAMS A.N., DAVIES D.L., KIRBY M.J. (2001) - *Virus and phytoplasma detection in fruit trees*. Outlook on Agriculture, 30 (1): 45-54.
- AHRENS U., SEEMÜLLER E. (1992) - *Detection of plant pathogenic mycoplasma-like organisms by a polymerase chain reaction that amplifies a sequence of the 16rRNA gene*. Phytopathology, 82: 828-832.
- ALMA A., CONTI M. (2002) - *Flavescenza dorata e altre fitoplasmosi della vite: il punto su vettori ed epidemiologia*. Inf. fitopat., 10: 31-35.
- ALMA A., ARNÒ C., ARZONE A., VIDANO C. (1988) - *New biological reports on Auchenorrhyncha in vineyards*. In: Proc. 6<sup>th</sup> Auchenorrhyncha Meeting [Turin (Italy), 7-11 Sept. 1987], pp. 509-516.
- ALMA A., BOSCO D., DANIELLI A., BERTACCINI A., VIBIO M., ARZONE A. (1997) - *Identification of phytoplasmas in eggs, nymphs and adults of Scaphoideus titanus Ball reared on healthy plants*. Insect Molecular Biology, 6 (2): 115-121.
- 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): 411-412.
- BARLASS M., SKENE K.G.M., WOODHAM R.C., KRAKE L.R. (1982) - *Regeneration of virus-free grapevines using in vitro-apical culture*. Ann. Appl. Biol., 101: 291-295.
- BELLI G., FORTUSINI A., BIANCO P.A., TORRESIN G., CARRARO S., PIZZOLI L. (1997) - *Flavescenza dorata e altri giallumi della vite*. Inf. agrario, 53: 69-73.
- BERTACCINI A., VIBIO M., STEFANI E. (1995) - *Detection and molecular characterization of phytoplasmas infecting grapevine in Liguria (Italy)*. Phytopath. medit., 34: 137-141.
- BERTACCINI A., MURARI E., VIBIO M., DANIELLI A., DAVIS R.E., BORGO M., CONSOLARO R., SANCASSANI P. (1996) - *Identificazione molecolare dei fitoplasmii in viti affette da giallumi in Veneto*. Inf. agrario, 20: 55-59.
- BERTIN S., PALERMO S., MARZACHÌ C., BOSCO D. (2003) - *A comparison of molecular diagnostic procedures for detection of Aster yellows phytoplasma (16SrI) in leafhopper vectors*. Phytoparasitica, 32: 141-145.
- BOSCO D., PALERMO S., MASON G., TEDESCHI R., MARZACHÌ C., BOCCARDO G. (2002) - *DNA-based methods for the detection and the identification of phytoplasmas in insect vector extracts*. Mol. Biotechnol., 22: 9-18.
- BOUDON-PADIEU E. (2000) - *Recent advances on Grapevine yellows: detection, ethiology, epidemiology and control strategies*. In: Proc. 13<sup>th</sup> Conference ICVG [Adelaide (Australia), March 12-17, 2000], pp. 87-88.
- CAUDWELL A. (1961) - *Étude sur la maladie de Bois noir de la vigne: ses rapports avec la Flavescence dorée*. Ann. des Épiphyties, 12: 241-262.
- CAUDWELL A., LARRUE J., BADOUR C., PALGE C., BERNARD R., LEGUAY M. (1983) - *Developpement epidemique d'un "enroulement à nervures jaunes", transmissible par la greffe, dans le vignoble de Champagne*. Agronomie, 3: 1027-1036.
- CAUDWELL A., LARRUE J., FLEURY A., BADOUR C., PALGE C. (1985) - *Attempts to transmit "Vein yellowing leafroll" of grapevine to Periwinkle and Broadbean. Determination of the infection period in the Champagne region*. Phytopath. medit., 24: 192-196.
- CAVALLINI G., CASTIGLIONI A., BORTOLOTTI P., VICOLI ALDINI R., BOTTI S., MOLOSSI A., BERTACCINI A. (2003) - *Flavescenza dorata e Legno nero in vigneti del Modenese*. Inf. agrario, 59 (21): 69-71.
- CLAIR D., LARRUE J., AUBERT G., GILLET J., CLOQUEMIN G., BOUDON-PADIEU E. (2003) - *Direct sensitive diagnosis of Flavescence dorée and Bois noir using a multiplex nested-PCR assay and its use in field surveys*. In: Proc. 14<sup>th</sup> Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICVG) [Locorotondo (BA-Italy), September 12-17, 2003], pp. 82-83.
- CONTI M. (2001) - *Giallumi della vite*. Inf. fitopat., 4: 35-40.
- CONTI M., MINUCCI C., TERRITO V., BOCCARDO G. (1997) - *Epidemiology of die-back of grapevine disease in Liguria, northern Italy*. In: Proc. 12<sup>th</sup> Conference ICVG, [Lisbon (Portugal), September 28-October 2<sup>nd</sup>, 1997], pp. 61-62.
- COUSIN M.T., BOUDON-PADIEU E. (2001) - *Phytoplasma and phytoplasma diseases: characteristics, symptoms and diagnosis*. Cahiers d'études et de recherches francophones/Agricultures, 10 (6): 361-376.
- 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*. J. Phytopathol., 124: 71-79.
- CREDI R., BABINI A.R. (1984) - *Casi epidemici di giallumi della vite in Emilia-Romagna*. Vignevini, 3: 35-39.
- 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*. Europ. J. Plant Pathol., 103 (6): 507-514.
- DANIELLI A., BERTACCINI A., BOSCO D., ALMA A., VIBIO M., ARZONE A. (1996) - *May evidence of 16SrI-group-related phytoplasmas in eggs, nymphs and adults of Scaphoideus titanus Ball suggest their transovarial transmission?*. IOM letters, vol. 4, pp. 190-191.
- DARIMONT H., MAIXNER M. (2001) - *Actual distribution of Hyalesthes obsoletus Signoret (Auchenorrhyncha: Cixiidae) in German viticulture and its significance as a vector of Bois noir. Integrated Control in Viticulture*, IOBC-WPRS Bulletin, 24 (7): 199-202.

- DAVIS R.E., DALLY E.L., BERTACCINI A., CREDI R., LEE I.-M., OSLER R., CARRARO L., BARBA M. (1992a) - *Cloned DNA probes for specific detection of Italian periwinkle virescence mycoplasma-like organism (MLO) and investigation of genetic relatedness with other MLOs*. *Phytopath. medit.*, 31: 5-12.
- DAVIS R.E., PRINCE J.P., HAMMOND R.W., DALLY E.L., LEE I.-M. (1992b) - *Polymerase chain reaction detection of Italian periwinkle virescence mycoplasma-like organism (MLO) and investigation of genetic relatedness with other MLOs*. *Petria*, 2: 183-192.
- DEL SERRONE P., BARBA M. (1996) - *Importance of the vegetative stage for phytoplasma detection in yellow-diseased grapevines*. *Vitis*, 35: 101-102.
- DEL SERRONE P., MINUCCI C., BARBA M. (1995) - *Diffusione del giallume fitoplasmale della vite in impianti laziali*. *Rivista di Viticoltura e Enologia*, 4: 11-16.
- DENG S., HIRUKI C. (1991) - *Amplification of 16S rRNA genes from culturable and nonculturable mollicutes*. *J. Microbiol. Meth.*, 14: 53-61.
- DOYLE J.J., DOYLE J.L. (1990) - *Isolation of plant DNA from fresh tissues*. *Focus*, 12: 13-15.
- EGGER E., BORGIO M. (1983) - *Diffusione di una malattia virus-simile su Chardonnay e altre cultivar del Veneto*. *Inf. agrario*, 16: 25547-25556.
- 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: 1092-1096.
- GARAU R., MINUCCI C., PROTA V.A., BOCCARDO G., FIORI M. (1997) - *Phytoplasma diseases of grapevine in Sardinia*. In: Proc. 12<sup>th</sup> Conference ICVG, [Lisbon (Portugal) September 28-October 2<sup>nd</sup>, 1997], pp. 71-72.
- GARAU R., SECHI A., TOLU G., PROTA V.A., LENTINI A., PROTA U. (2004) - *Goniagnathus guttulinervis (Kirschbaum), new natural host of the Stolbur subgroup 16SrXII-A phytoplasmas in Sardinia*. *J. Plant Pathol.*, 86 (2), 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: STANEK G., CASSEL G.H., TULLY J.G., WHITCOMB R.F., *Recent advances in mycoplasmaology*, Fischer Verlag, Stuttgart, pp. 263-269.
- GARTEL W. (1965) - *Untersuchungen über das Auftreten und das Verhalten des Flavescence dorée in den Weinbaugebieten an Mosel und Rhein*. *Weinberg und Keller*, 12: 347-376.
- GOODWIN P.H., XUE B.G., KUSKE C.R., SEARS M.K. (1994) - *Amplification of plasmid DNA to detect plant pathogenic mycoplasma-like organisms*. *Ann. Appl. Biol.*, 124: 27-36.
- GRANATA G. (1982) - *Deperimenti e giallume in piante di vite*. *Inf. fitopat.*, 7-8: 18-20.
- GUNDERSEN D.E., LEE I.-M. (1996) - *Ultrasensitive detection of phytoplasmas by nested-PCR assays using two universal primer pairs*. *Phytopath. medit.*, 35: 144-151.
- HANBOOSONG Y., CHOOSAI C., PANYIM S., DAMAK S. (2002) - *Transovarial transmission of sugarcane white leaf phytoplasma in the insect vector Matsumuratettix hiroglyphicus (Matsumura)*. *Insect Molecular Biology*, 11 (1): 97-103.
- HIGUCHI R., DOLLINGER G., WALSH P.S., GRIFFITH R. (1992) - *Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences*. *Biotechnol.*, 10: 413-417.
- KHAN A.J., BOTTI S., PALTRINIERI S., AL-SUBHI A.M., BERTACCINI A. (2002) - *Phytoplasmas in alfalfa seedlings: contaminated or infected seeds?* In: Proc. 14<sup>th</sup> IOM Congress [Vienna, July 7-12], pp. 148 n. 205.
- KAWAKITA H., SAIKI T., WEI W., MITSUHASHI W., WATANABE K., SATO M. (2000) - *Identification of mulberry dwarf phytoplasmas in the genital organs and eggs of leafhopper Hishimonoides stellatiformis*. *Phytopathology*, 90 (8): 909-914.
- KIRKPATRICK B.C., STENGER D.C., MORRIS T.J., PURCELL A.H. (1987) - *Cloning and detection of DNA from a nonculturable plant pathogenic mycoplasma-like organism*. *Science*, 283: 197-200.
- 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: 355-365.
- LANGER M., MAIXNER M. (2004) - *Molecular characterization of Grapevine yellows associated phytoplasmas of the stolbur-group based on RFLP-analysis of non-ribosomal DNA*. *Vitis*, 43 (4): 191-200.
- LEE I.-M., DAVIS R.E. (1992) - *Mycoplasmas which infect plants and insects*. In: MANILOFF J., MCELHANEY R.N., FINCH L.R., BASEMAN J.B., *Mycoplasmas: Molecular Biology and Pathogenesis*. American Society for Microbiology, Washington D.C., pp. 379-390.
- LEE I.-M., DAVIS R.E., GUNDERSEN-RINDAL D.E. (2000) - *Phytoplasma: phytopathogenetic mollicutes*. *Ann. Rev. Microbiol.*, 54: 221-255.
- LEE I.-M., GUNDERSEN-RINDAL D.E., DAVIS R.E., BARTOSZYK I.M. (1998) - *Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analysis of 16SrRNA and ribosomal protein gene sequences*. *Int. J. Syst. Bacter.*, 48: 1153-1169.
- LEE I.-M., GUNDERSEN-RINDAL D.E., HAMMOND R.W., DAVIS R.E. (1994) - *Use of mycoplasma-like organism (MLO) group-specific oligonucleotide primers for nested-PCR assays to detect mixed-MLO infections in a single host plant*. *Phytopathology*, 84: 559-566.
- 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*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64 (11): 4566-4572.
- MAIXNER M. (1994) - *Transmission of German grapevine yellows (Vergilbungskrankheit) by the planthopper Hyalesthes obsoletus (Auchenorrhyncha: Cixiidae)*. *Vitis*, 33: 103-104.

- MAIXNER M., AHRENS U., SEEMULLER E. (1995) - *Detection of the German grapevine yellows (Vergilbungskrankheit) MLO in grapevine, alternative hosts and a vector by a specific PCR procedure*. *Europ. J. Plant Pathol.*, 101: 241-250.
- MAIXNER M., DARIMONT H., MOHR H.D. (2001) - *Studies on the transmission of Bois noir to weeds and potential ground-cover plants by Hyalesthes obsoletus Signoret (Auchenorrhyncha: Cixiidae)*. *Integrated Control in Viticulture, IOBC-WPRS Bulletin*, 24 (7): 249-251.
- MARZACHÌ C., BOARINO A. (2002) - *Diagnosi molecolare delle malattie da fitoplasmi della vite*. *Inf. fitopat.*, 52: 36-41.
- MARZACHÌ C., VERATTI F., BOSCO D. (1998) - *Direct PCR detection of phytoplasmas in experimentally infected insects*. *Ann. Appl. Biol.*, 133: 45-54.
- 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*. *J. Plant Pathol.*, 82 (3): 201-212.
- MARZACHÌ C., BOARINO A., VISCHI A., PALERMO S., MORONE C., LORIA A., BOCCARDO G. (2001) - *Flavescenza dorata, Legno nero e giallume dell'astro in viti-gni del Piemonte sud-orientale*. *Inf. fitopat.*, 9: 58-63.
- MINUCCI C., BOCCARDO G. (1997) - *Genetic diversity in the Stolbur phytoplasma group*. *Phytopath. medit.*, 36: 45-49.
- MORONE C., GOTTA P., MARZACHÌ C. (2001) - *Riconoscimento dei sintomi di inizio stagione della flavescenza dorata*. *Inf. agrario* 17, 83-86.
- 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*. *Inf. fitopat.*, 11: 61-63.
- PALERMO S., ELEKES M., BOTTI S., EMBER I., ALMA A., OROSZ A., BERTACCINI A., KÖLBER M. (2004) - *Presence of Stolbur phytoplasma in Cixiidae in Hungarian vineyards*. *Vitis* 43 (4): 201-203.
- PALMANO S. (2001) - *A comparison of different phytoplasma DNA extraction methods using competitive PCR*. *Phytopath. medit.*, 40: 99-107.
- 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*. In: *Atti Progetto POM A32 (vol. II), "Norme fitosanitarie e commercializzazione delle produzioni vivaistiche"*, [Locorotondo (BA), 4-7 dicembre 2001], pp. 921-940.
- REFATTI E. (1993) - *Stato attuale delle conoscenze sulla presenza, diffusione e gravità della flavescenza dorata e di altri giallumi della vite in Italia e in altri Paesi del mondo*. In: *Atti Conv. "La Flavescenza dorata e altri giallumi della Vite"* [Gorizia (Italia), 3 dicembre 1993], pp. 13-18.
- REFATTI E., CARRARO L., OSLER R., LOI N., PAVAN R. (1998) - *Presenza di differenti tipi di giallumi della vite nell'Italia nord-orientale*. *Petria*, 8: 85-98.
- RIRIE K.M., RASMUSSEN R.P., WITTEWIT C.T. (1997) - *Product differentiation by analysis of DNA melting curves during the Polymerase chain reaction*. *Anal. Biochem.*, 245: 154-160.
- SCHMITTGEN T.D. (2001) - *Real-Time Quantitative PCR*. *Methods*, 25: 383-385.
- SEALANGA A., BRACCINI P., MURARI E., MARTINI M., PARRINI C., BERTACCINI A. (1999) - *Presenza di Legno nero in viti toscane*. *Inf. agrario*, 11: 99-102.
- SFORZA R., BOUDON-PADIEU E. (1998) - *Le principal vecteur de la malarie du Bois noir*. *Phytoma*, 510: 33-37.
- SFORZA R., CLAIR D., DAIRE X., LARRUE J., BOUDON-PADIEU E. (1998) - *The role of Hyalesthes obsoletus (Hemiptera: Cixiidae) in the occurrence of Bois noir of grapevine in France*. *J. Phytopathol.*, 146: 549-556.
- SMART C.D., SCHNEIDER B., BLOMQUIST C.L., GUERRA L.J., HARRISON N.A., AHRENS U., LORENZ K.H., SEEMÜLLER E., KIRKPATRICK B.C. (1996) - *Phytoplasma-specific PCR primers based on sequences of the 16S-23S rRNA spacer region*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62: 2988-2993.
- TANNE E., BOUDON-PADIEU E., KUSZALA C. (1995) - *Studies of Grapevine yellows in Israel - occurrence, identification and spread*. *Phytoparasitica*, 23: 275-276.



## 9. La lotta obbligatoria alla flavescenza dorata e al suo vettore *Scaphoideus titanus*

Marina Barba

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 e l’attuazione di questo nuovo decreto di lotta obbligatoria era stato ritenuto necessario 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 flavescenza dorata (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*.

### 9.1 Modalità di applicazione del Decreto n. 32442/2000

La flavescenza dorata e il suo vettore *S. titanus* non sono uniformemente distribuiti sul territorio italiano (Bianco *et al.*, 2002). Attualmente le zone viticole del Nord Italia (Piemonte, Liguria, Lombardia, Veneto, Friuli-Venezia Giulia, Emilia-Romagna) sono le più interessate a questa epidemia nonostante negli ultimi anni si siano avuti chiari segnali che sia il fitoplasma che il vettore si stanno lentamente muovendo verso il Centro-Sud: si ricordano, a questo proposito, le segnalazioni di FD in Toscana, Umbria e Marche o del vettore in alcuni vigneti della Toscana, Campania e della Basilicata (Alma e Conti, 2002; Viggiani, 2002, 2004).

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 Scaphoideus titanus*

Al fine di evitare il rischio di introduzione del patogeno e del suo vettore dovrebbe essere eseguita una sorveglianza prima di tutto in aree limitrofe, se esistenti, a zone in cui la presenza di FD è già nota o in 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 (per esempio, 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 causali 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 Scaphoideus titanus*

Sono queste le Regioni a cui 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:



1. Viti con presenza di fitoplasmosi

- *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: monitoraggio accurato, lotta al vettore.



2. Trappola cromotropica utilizzata per il monitoraggio di *Scaphoideus titanus* Ball

## 9.2 Caratterizzazione del fitoplasma flavescenza dorata

La normativa ha l'obiettivo di contenere la diffusione sul territorio nazionale del fitoplasma agente eziologico di FD (gruppo ribosomico: 16SrV) e del suo vettore specifico *Scaphoideus 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 il fitoplasma FD viene combattuto, sono dovuti all'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.

Si è ritenuto utile, pertanto, allestire, con la partecipazione di ricercatori esperti del settore, una prova comparativa che avesse la finalità di individuare un protocollo di diagnosi idoneo allo scopo.

Presso i laboratori dell'Istituto Sperimentale per la Patologia Vegetale di Roma sono stati messi a confronto 3 protocolli specifici per il rilevamento di FD in vite comprendenti ciascuno un metodo di estrazione del DNA totale dal tessuto fogliare, seguito da diversi tipi di amplificazione di frammenti specifici di DNA ribosomico dei fitoplasmi, atti a evidenziare la presenza dell'agente responsabile della malattia.

I risultati ottenuti hanno confermato la validità dei protocolli, tutti e tre in grado di identificare FD.

Per ognuno di loro, pertanto, sono state descritte e rese note in maniera molto dettagliata tutte le modalità di esecuzione (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 emersi nel corso delle discussioni succedutesi a Roma 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 (ad esempio, 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* (foglie sia basali che apicali) che non presentino necrosi o forti 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 subito a 4°C in una borsa frigorifera 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.

### 9.3 Monitoraggio di *Scaphoideus titanus* Ball

Come precedentemente detto, 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 suffi-

ciente 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 (raccolgitore di Stainer).

I risultati di questo monitoraggio sono indispensabili per delimitare le zone viticole dove il vettore è presente ed è 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 contaminate.

### 9.4 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 flavescenza dorata/*S. titanus* è particolarmente presente. Fortunatamente le zone ad alto tasso vivaistico presenti nel Friuli-Venezia Giulia sono ancora indenni dalla malattia, ma soltanto un'attenta opera di controllo e prevenzione potrà garantire il mantenimento futuro di questa situazione positiva.

L'esplosione, inoltre, di una epidemia all'interno di campi produttori di marze o di portinnesti o di una struttura vivaistica provocherebbe l'impossibilità di continuare ad approvvigionarsi di materiale di propagazione e l'interruzione di qualsiasi attività commerciale.

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.

### 9.5 Alcune considerazioni di carattere generale

Scrivere un decreto di lotta obbligatoria è, per persone esperte del settore, relativamente facile, applicarlo è sicuramente molto più difficile. Va riconosciuto a questo decreto un importante aspetto innovativo: attraverso la definizione di differenti zone (focolaio, insediamento, indenne) i servizi fitosanitari regionali hanno potuto modulare gli interventi adattandoli, caso per caso, alle molteplici situazioni esistenti nel territorio di propria competenza.

La complessità applicativa di questo decreto è dovuta anche al fatto che la coltura da difendere, la vite, è presente in elevatissima concentrazione nelle regioni più a rischio dove riveste un ruolo economico particolarmente alto. Estirpare dei vigneti, o solo alcune piante, che sono nel massimo della loro produzione e, magari, appartengono a zone DOC ad alta redditività, è molto difficile e rischia l'instaurarsi di contenziosi non sempre facilmente risolvibili.

Sicuramente il decreto di lotta obbligatoria, è di fondamentale importanza in quelle zone dove la malattia non è presente o è localizzata in alcune zone ben definite e circoscritte: in questo caso, infatti, è possibile con un accurato monitoraggio e una adeguata lotta insetticida, mantenere sotto controllo la diffusione del vettore e, di conseguenza, del fitoplasma.

Si è più volte sottolineato come i trattamenti preventivi contro *S. titanus* siano alla base di una efficace azione preventiva. Bisogna ricordare, però,

che a volte è difficile intervenire in vigneti incolti e abbandonati dove non si riesce neanche a rintracciare il proprietario o superare le preoccupazioni di alcuni viticoltori che nei loro vigneti eseguono trattamenti insetticidi solo raramente per evitare il rischio di presenza di residui nel vino.

Un altro fattore che rende particolarmente impegnativa l'applicazione di questa lotta obbligatoria è la necessità di ricorrere ad analisi molecolari per accertare la presenza di FD in viti sintomatiche. Il costo di queste analisi è elevato, i laboratori dei servizi fitosanitari, in molte regioni, non sono attrezzati per eseguirle e si devono necessariamente appoggiare ad altre strutture scientifiche operanti sul territorio con notevole aggravio della spesa. Le analisi diagnostiche, inoltre, possono essere eseguite solamente in un periodo dell'anno ben circoscritto riducendo i tempi tecnici in cui predisporre un'attività di monitoraggio, osservazione dei sintomi e raccolta dei campioni da analizzare.

Va sottolineato, infine, 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, organizzato monitoraggi che hanno consentito di conoscere la reale incidenza del problema sul territorio nazionale. Molto spazio è stato dato anche alla attività divulgativa estrinsecata 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.

### Bibliografia

- ALMA A., CONTI M. (2002) - *Flavescenza dorata e altre fitoplasmosi della vite: il punto su vettori ed epidemiologia*. Inf. fitopat., 10: 31-35.
- BIANCO P.A., OSLER R., BARBA M. (2002) - *I giallumi della vite: evoluzione delle malattie dalla loro comparsa in Italia*. Petria, 12 (3): 399-404.
- 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*. In: Atti Progetto POM A32 (vol. II), "Norme fitosanitarie e commercializzazione delle produzioni vivaistiche", [Locorotondo (BA), 4-7 dicembre 2001], pp. 921-940.
- VIGGIANI G. (2002) - *Il vettore della flavescenza dorata in Basilicata*. Inf. agrario, 36: 59.
- VIGGIANI G. (2004) - *Il vettore della flavescenza dorata anche in Campania*. Inf. agrario, 18: 98.

## 10. PROGETTO DI RICERCA “I giallumi della vite: un fattore limitante le produzioni vitivinicole”

Marina Barba, Graziella Pasquini

### 10.1 Il problema

Nel 1973 i giallumi da fitoplasmi sono stati segnalati in Italia in vigneti dell'Oltrepò Pavese (Belli *et al.*, 1973). La complessità del problema e la necessità di trovare adeguati metodi e mezzi di lotta suggerirono di avviare un progetto di ricerca finalizzato (*La Flavescenza dorata della vite*, 1987), patrocinato e finanziato dall'ex Ministero dell'Agricoltura e Foreste, a cui afferirono differenti istituzioni scientifiche coordinate dal prof. Antonio Quacquarelli.

L'attività di ricerca finanziata per sei anni consentì di raggiungere alcuni obiettivi, quali la conoscenza della distribuzione geografica e dei vitigni più frequentemente colpiti dai giallumi della vite, e aprì la via alla soluzione dei problemi concernenti l'eziologia, la diagnosi e la lotta (Quacquarelli, 1990).

Agli inizi degli anni novanta il fenomeno collegato alle malattie della vite da fitoplasmi ha avuto una recrudescenza in alcune aree viticole del Nord-Est (Veneto, in particolare) preoccupando e allarmando tutti gli operatori del settore vitivinicolo. La situazione sanitaria e i danni conseguenti sono apparsi subito più gravi e preoccupanti rispetto a quanto era stato osservato nel precedente periodo. Ben presto si è potuto determinare che la nuova esplosione epidemica era causata dalla introduzione, probabilmente dalla vicina Francia e attraverso la commercializzazione di materiale di propagazione viticolo, della flavescenza dorata (FD) *sensu strictu*, malattia in grado di diffondersi molto rapidamente in presenza dello specifico vettore (*Scaphoideus titanus*) (Alma e Conti, 2002), a differenza del “legno nero”, presente e diffuso in Italia da parecchio tempo, ma che si caratterizza per un andamento meno epidemico (Bianco *et al.*, 2002).

La flavescenza dorata si è diffusa nelle aree limitrofe ai primi focolai infettivi inducendo, sulle viti

colpite, un deperimento talvolta irreversibile che, nei casi estremi, determinava, oltre a significative perdite di produzione, la morte della pianta.

Negli ultimi anni, oltre al Veneto, sono stati osservati e denunciati focolai di flavescenza dorata in molte zone viticole della Lombardia, del Piemonte, della Liguria, dell'Emilia-Romagna, della Toscana e della parte più occidentale del Friuli-Venezia Giulia. Recentemente, FD è stata rilevata anche nelle Marche (Credi *et al.*, 2002) e in Umbria. Particolare preoccupazione, inoltre, hanno destato alcune segnalazioni sulla presenza del vettore *S. titanus* in vigneti della Basilicata (Viggiani, 2002) e della Campania (Viggiani, 2004). Il rinvenimento, infatti, del vettore in zone fino a ora considerate libere da flavescenza dorata ne fa temere una possibile introduzione in tempi non troppo lontani.

Nell'Italia centro-meridionale, dove i giallumi sono associati a fitoplasmi appartenenti a un altro gruppo (Barba e Albanese, 2002), la malattia, anche se con andamento diverso rispetto a quello riscontrato per FD nell'Italia settentrionale, si diffonde naturalmente in campo facendo supporre l'esistenza di un vettore. Le segnalazioni di sintomatologie specifiche sono aumentate negli ultimi anni e in alcuni casi sono stati riscontrati danni che hanno inficiato la produttività dei vigneti.

### 10.2 Gli interventi

Il MiPAF, in collaborazione con le Regioni, e in ottemperanza alla Direttiva comunitaria n. 2000/29 CEE, ha approntato un provvedimento di lotta obbligatoria (D.M. del 31 maggio 2000, n. 32442) che definisce le misure d'intervento e di controllo della FD della vite, compresa l'eventuale eradicazione delle piante e dei vigneti colpiti. Gran

**Tab. 1 - Unità operative e collaboratori esterni coinvolti nel Progetto Finalizzato**

U.O.	Istituzione	Responsabile	Titolo della Ricerca
1	CRA – Istituto Sperimentale per la Patologia Vegetale, Roma	G. Pasquini	Studio della diffusione e caratterizzazione di fitoplasmi agenti causali dei giallumi della vite nel centro-Italia
2	Istituto di Virologia Vegetale – CNR, Torino	C. Marzachi	Mappatura, caratterizzazione e ospiti alternativi di flavescenza dorata e legno nero della Vite
3	CRA – Istituto Sperimentale per la Viticoltura, Conegliano Veneto (TV)	M. Borgo	Interventi per il contenimento dei danni causati dalla flavescenza dorata della Vite
4	Istituto di Patologia Vegetale Università di Milano	P.A. Bianco	I giallumi della vite in Lombardia
5	Dip.to di Biologia applicata alla difesa delle piante, Università di Udine	R. Osler	I giallumi della vite: studio finalizzato della regressione dei sintomi
6	Dip.to di Biologia applicata alla difesa delle piante, Università di Udine	F. Pavan	Confronto fra diverse strategie di lotta al vettore <i>Scaphoideus titanus</i>
7	DIVAPRA – Entomologia e zoologia applicate all'ambiente "Carlo Vidano" Facoltà di Agraria, Università di Torino	A. Alma	Influenza della bio-etologia e dell'epidemiologia degli achenorinchi vettori nella diffusione di ampelopatie associate a fitoplasmi
8	DISTA, Patologia vegetale Alma Mater Studiorum, Università di Bologna	A. Bertaccini	Biodiversità molecolare ed epidemiologia dei giallumi
9	CRA – Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Firenze	B. Bagnoli	Bio-eto-ecologia e strategie di controllo di <i>S. titanus</i> , <i>H. obsoletus</i> e altri omotteri achenorinchi vettori di fitoplasmi della vite
10	Dipartimento di Scienze e Tecnologie Fitosanitarie (DISTEF), Facoltà di Agraria, Università di Catania	R. La Rosa	Indagini sui giallumi della vite e sui loro vettori in Sicilia
Coll. 1	Unità di ricerca sui Fitoplasmi dell'INRA Università di Bourgogne, Dijon (Francia)	E. Boudon-Padieu	Mantenimento e trasmissione di giallumi reperiti su flora spontanea e/o su insetti potenziali vettori
Coll. 2	Department of Plant Physiology and Biotechnology of National Institute of Biology, Lubiana (Slovenia)		Ricerche sulla base fisiologica del <i>recovery</i>
Coll. 3	Dipartimento di Agrochimica e Agrobiologia, Università Mediterranea Reggio Calabria	G. Albanese	Indagini sui giallumi della vite e sui loro vettori in Calabria

**Tab. 2 - Diagramma dei ruoli e delle interazioni tra le Unità Operative e le collaborazioni esterne**

Attività	u.o.1	u.o.2	u.o.3	u.o.4	u.o.5	u.o.6	u.o.7	u.o.8	u.o.9	u.o.10	Coll.1	Coll.2	Coll.3
Monitoraggio	•	•	•	•				•		•			•
Eziologia	•	•	•	•				•		•			•
Diagnosi	•	•	•	•				•		•			•
Fattori ambientali	•		•	•			•	•	•		•		
Studio dei vettori	•					•	•		•	•	•		
Sensibilità varietale			•					•		•			•
Lotta ai vettori						•	•						
<i>Recovery</i>		•	•		•							•	
Risanamento			•	•				•					

parte delle regioni interessate dalla malattia ha definito le misure d'intervento per contenere i danni e salvaguardare il patrimonio genetico di varietà e cloni di vite nelle diverse fasi del processo propagativo. Uno dei rischi maggiori è, infatti, la possibilità di contaminazione delle fonti primarie e dei materiali destinati alla moltiplicazione e alla produzione vivaistica.

Contemporaneamente a queste iniziative prettamente normative, il MiPAF ha sentito la necessità di armonizzare e integrare i differenti interventi intrapresi a livello locale istituendo, con Circolare n. 30361 del 20 gennaio 2000, un gruppo di lavoro *ad hoc* che ha:

- 1) individuato e suggerito una serie di misure fitosanitarie urgenti da attuare nelle aree colpite;
- 2) definito un metodo ufficiale di riconoscimento dell'organismo nocivo (Pasquini *et al.*, 2001);
- 3) sviluppato uno specifico programma di ricerca che è stato sottoposto all'attenzione dei responsabili per un eventuale finanziamento.

Proprio alla luce di queste valutazioni, il MiPAF con decreto n. 652/7303/03 del 19 dicembre 2003 ha concesso all'Istituto Sperimentale per la Patologia Vegetale (IsPAVE) di Roma un finanziamento triennale per l'attuazione di un progetto finalizzato dal titolo: "I giallumi della vite: un fattore limitante le produzioni vitivinicole". A tale Progetto partecipano 10 Unità Operative e alcune istituzioni scientifiche intervengono come collaboratori esterni (*tab. 1*).

### 10.3 Il progetto di ricerca

L'attività del progetto copre i diversi aspetti della malattia ed è articolata in due grossi filoni di ricerca:

- monitoraggio nelle varie zone viticole italiane al fine di definire la diffusione dei giallumi e chiarirne gli aspetti eziologici ed epidemiologici;
- controllo della malattia al fine di ridurne l'impatto nel sistema vigneto.

Le diverse unità operative sono coinvolte, in base alle proprie competenze, nelle varie attività del progetto (*tab. 2*) e interagiscono tra loro al fine di favorire un approccio interdisciplinare indispensabile alla soluzione del problema.

#### *Il monitoraggio*

Questa tematica prevede di caratterizzare la malattia presente nelle diverse aree viticole italiane. Dopo il primo anno di attività è stato possibile disegnare una mappa di diffusione dei giallumi sul territorio nazionale grazie a una capillare opera di monitoraggio nelle varie zone viticole. Le indagini, effettuate sulla base di osservazioni sintomatologiche (*foto 1a-b*) e di specifiche analisi molecolari, hanno consentito di approfondire la conoscenza sulla vulnerabilità territoriale, individuando le zone a maggiore rischio epidemico.

Nel corso del monitoraggio è iniziata la caratterizzazione degli agenti fitoplasmatici associati alle viti infette consentendo una migliore comprensione della variabilità genomica esistente fra i diversi isolati di fitoplasmici responsabili dei giallu-



1. Nel corso dei monitoraggi eseguiti in vigneti laziali sono stati osservati forti sintomi di legno nero in viti a bacca bianca e rossa: a) arrotolamento della lamina fogliare e giallume diffuso osservato nella vite della varietà Bellone; b) arrossamenti diffusi osservati nella varietà Cesanese

mi. Le Unità Operative coinvolte in questo specifico settore di ricerca hanno definito e stanno attualmente utilizzando metodi molecolari unificati per la caratterizzazione di gruppi e sottogruppi dei fitoplasmi FD e LN.

Prosegue, inoltre, il lavoro di armonizzazione dei protocolli di diagnosi molecolare, a completamento delle attività richieste in passato al gruppo di lavoro istituito dal MiPAF senza trascurare di mettere a punto metodologie innovative (PCR *Real Time*, tecnica dei *microarray*), quali alternative diagnostiche ai metodi tradizionali.

Lo studio dei vettori è un altro aspetto saliente del monitoraggio che si prefigge di valutare il ruolo degli achenorinchi ampelofagi nella trasmissione di FD e LN. Le catture e i monitoraggi eseguiti fino a ora contribuiranno a migliorare le conoscenze sulla dinamica di popolazione di *Scaphoideus titanus* e dello *Hyalesthes obsoletus* su vite e sulle piante ospiti spontanee nelle aree viticole con elevata presenza dei vettori, confrontando, inoltre, le catture di maschi e femmine in diverse condizioni. Molto si sta facendo per confermare il ruolo vettore di *H. obsoletus* nella malattia del legno nero e per meglio comprendere se esistono altri vettori naturali attivi, specialmente nelle zone viticole dell'Italia meridionale e del Sud. Verranno, inoltre, effettuate prove di trasmissione in ambiente controllato al fine di acquisire nuove conoscenze sul rapporto vettore-pianta-fitoplasma, con particolare attenzione al ruolo delle piante spontanee serbatoio. Tutti i dati ottenuti verranno elaborati per la creazione di modelli statistici.

L'ottimizzazione delle tecniche diagnostiche e la possibilità di uniformare gli studi epidemiologici su tutto il territorio nazionale consentiranno di approfondire le conoscenze sulla malattia, in particolare sui fattori esterni che possono influenzare la manifestazione sintomatologica dei giallumi. A tale scopo, in alcuni vigneti pilota individuati nelle prime fasi di avvio del progetto verranno costantemente controllati alcuni parametri agro-ambientali (tecniche agronomiche, ruolo delle essenze spontanee quali serbatoio di inoculo, effetto bordo o deriva dei boschi limitrofi, condizioni pedo-climatiche, presenza di malattie virali etc.).

#### *Il controllo*

Questa tematica del Progetto affronta in senso lato il controllo della malattia nel tentativo di ridurre l'impatto nel sistema vigneto. Principale obiettivo è la definizione del ruolo degli insetti vettori nella diffusione dei fitoplasmi associati a questa grave affezione della vite. Mentre, infatti,

per FD il ruolo dello *S. titanus* è ben definito, le conoscenze sui vettori di LN necessitano ancora di ulteriori indagini.

Inoltre, con alcune prove sperimentali si sta valutando l'efficacia di diversi insetticidi verso i vari stadi di sviluppo degli insetti vettori e la loro selettività nei confronti di potenziali insetti utili, al fine di contenere la diffusione della malattia all'interno dei vigneti nel rispetto di un'agricoltura integrata a basso impatto ambientale.

Un aspetto poco studiato, ma molto interessante, riguarda l'approfondimento delle conoscenze sul fenomeno della "remissione dei sintomi" (*recovery*). Il Progetto prevede di definire e valutare i parametri che regolano e condizionano questo fenomeno di guarigione spontanea, potenzialmente interessante per la messa a punto di una strategia di controllo sostenibile della malattia.

Al fine di recuperare germoplasma viticolo di particolare interesse agronomico, alcune unità operative del progetto sono anche impegnate nella valutazione e nella messa a punto di tecniche di risanamento di germoplasma di vite applicabili *in vitro* e *in vivo*.

#### **10.4 Alcune considerazioni**

Ancora una volta il MiPAF ha dimostrato grande attenzione e disponibilità a voler salvaguardare il patrimonio viticolo italiano dalla diffusione dei giallumi. Il finanziamento di questo progetto ha permesso, infatti, di raccordare le tante iniziative intraprese a livello locale e di affrontare in modo organico e integrato le differenti problematiche che contraddistinguono questo complesso gruppo di malattie causate da fitoplasmi. Solo l'attuazione di un progetto a respiro nazionale, a cui partecipano tutti i gruppi di ricerca attivamente impegnati nello studio di queste problematiche, può garantire il miglioramento delle conoscenze scientifiche di base, prerequisito indispensabile all'attuazione di concrete strategie di difesa.

Le informazioni derivanti dalla attività di ricerca, grazie a un rapido travaso di conoscenze, avranno una ricaduta a livello regionale dove le amministrazioni locali potranno mettere in atto piani di intervento idonei per il proprio territorio per *a)* rimanere competitive nel settore viticolo, *b)* mantenere i posti di lavoro legati alla filiera vitivinicola, *c)* scongiurare l'abbandono delle aree viticole maggiormente colpite dalle epidemie di giallumi con il conseguente degrado ambientale ed esposizione a rischi idrogeologici e *d)* salvaguardare la

biodiversità legata al germoplasma locale.

Consapevoli dell'importanza della rapida fruizione delle notizie, il Progetto prevede anche un'opera di divulgazione dei risultati intermedi e finali attraverso varie strategie:

1. pubblicazioni scientifiche su riviste internazionali e nazionali;
2. pubblicazioni tecniche e divulgative, in collaborazione con i Servizi Fitosanitari interessati, da distribuire ai tecnici che operano nel settore;

3. stampa di un Manuale sulla malattia dei giallumi della vite che, alla fine dell'attività scientifica, avrà lo scopo di divulgare i risultati e le conoscenze acquisite nell'ambito del progetto a tutti gli operatori del settore vitivinicolo nazionale.

#### *Ringraziamenti*

Lavoro svolto nell'ambito del Progetto di ricerca "I giallumi della vite: un fattore limitante le produzioni vitivinicole", finanziato dal Ministero per le Politiche Agricole e Forestali.

## **Bibliografia**

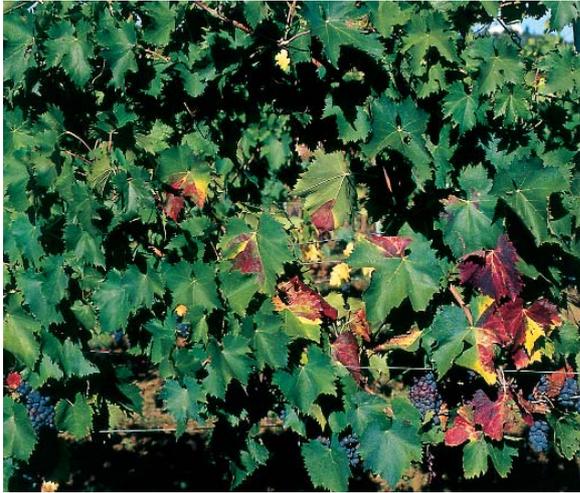
- ALMA A., CONTI M. (2002) - *Flavescenza dorata e altre fitoplasmosi della vite: il punto su vettori ed epidemiologia*. Inf. fitopat., 10: 31-35.
- BARBA M., ALBANESE G. (2002) - *Malattie da fitoplasmi della vite. Situazione nell'Italia centro-meridionale*. Inf. fitopat., 10: 49-52.
- BELLI G., FORTUSINI A., OSLER R., AMICI A. (1973) - *Presenza di una malattia del tipo "Flavescence dorée" in vigneti dell'Oltrepò pavese*. Riv. Pat. Veg., Ser. IV, 9 (Suppl.): 50-56.
- BIANCO P.A., OSLER R., BARBA M. (2002) - *I giallumi della vite: evoluzione delle malattie dalla loro comparsa in Italia*. Petria, 12 (3): 399-404.
- CREDI R., TERLIZZI F., STIMILLI F., NARDI G., LAGNESE R. (2002) - *Flavescenza dorata della vite nelle Marche*. Inf. agrario, 58, 22: 61-63.
- 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*. In: Atti Progetto POM A32 (vol. II), "Norme fitosanitarie e commercializzazione delle produzioni vivaistiche", [Locorotondo (BA), 4-7 dicembre 2001], pp. 921-940.
- QUACQUARELLI A. (1990) - *La flavescenza dorata della vite*. Agricoltura, 209/210: 20-27.
- VIGGIANI G. (2002) - *Il vettore della flavescenza dorata in Basilicata*. Inf. agrario, 36: 59.
- VIGGIANI G. (2004) - *Il vettore della flavescenza dorata anche in Campania*. Inf. agrario, 18: 98.



**ATLANTE**  
**Sintomi di fitoplasmosi nei vari vitigni**



## Sintomi di fitoplasmosi in Sangiovese



1. Sintomi fogliari in Sangiovese  
Foto P. Braccini



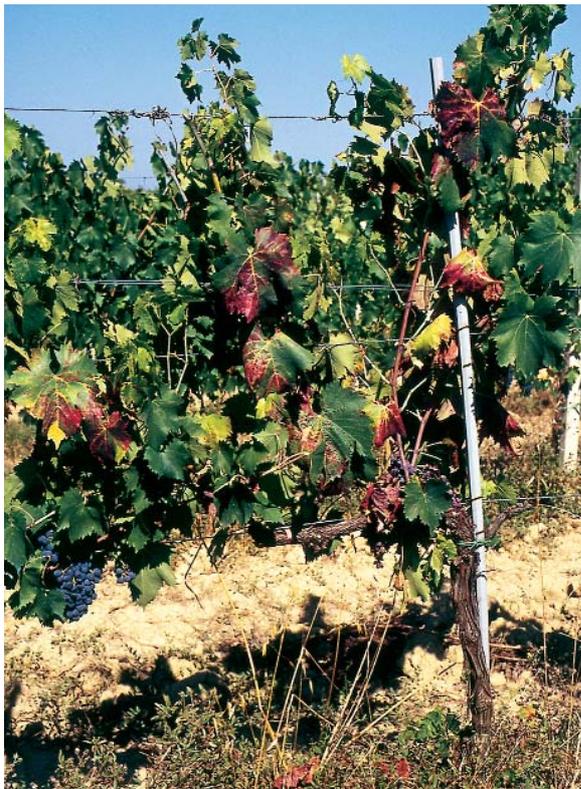
2. Sintomi in pianta di Sangiovese  
Foto P. Braccini



3. Sintomi in foglie di Sangiovese  
Foto P. Braccini



4. Sintomi in grappolo di Sangiovese  
Foto P. Braccini



**5. Sintomi in pianta di Sangiovese**  
Foto P. Braccini



**6. Sintomo di mancata lignificazione in Sangiovese**  
Foto P. Braccini



**7. Sintomi in Sangiovese**  
Foto P. Braccini



**8. Sintomi in grappolo di Sangiovese**  
Foto P. Braccini

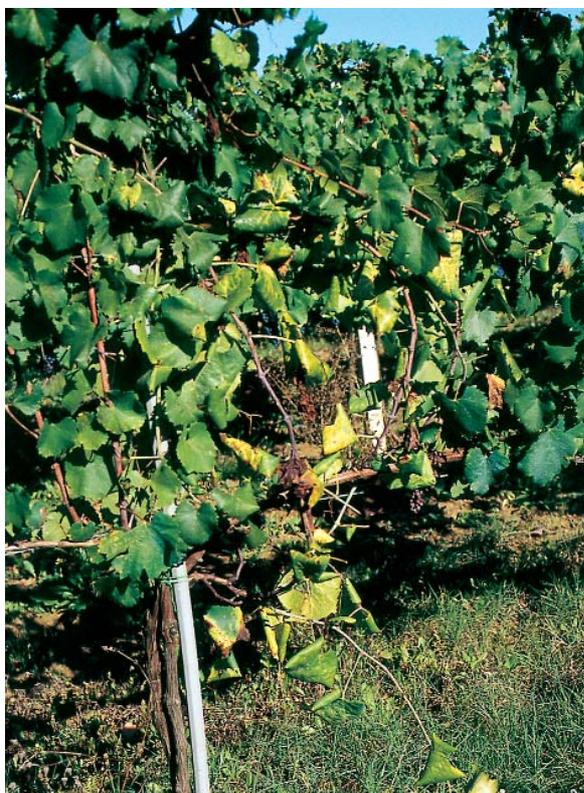
## Sintomi di fitoplasmosi in Chardonnay



**9. Sintomi fogliari in Chardonnay**  
Foto P. Braccini



**10. Sintomi in foglia di Chardonnay**  
Foto P. Braccini



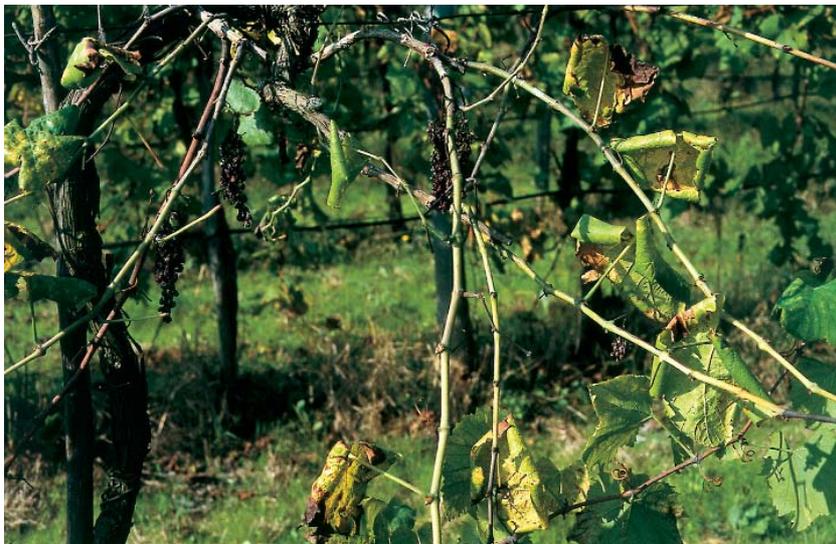
**11. Sintomi in pianta di Chardonnay**  
Foto P. Braccini



**12. Sintomi in foglie di Chardonnay**  
Foto P. Braccini



**13. Sintomi in grappoli di Chardonnay**  
Foto P. Braccini



**14. Sintomi di vegetazione cadente e mancata lignificazione in Chardonnay**  
Foto C. Parrini



**15. Sintomi di mancata lignificazione in Chardonnay**  
Foto P. Braccini

## Sintomi fogliari di fitoplasmosi in altri vitigni



16. Sintomi fogliari in Aleante Poggiarelli



17. Sintomi in Aleante Poggiarelli



18. Sintomi in Aleante Rivalto



19. Sintomi in Alicante



20. Sintomi in Alicante Bouscet



21. Sintomi in Alicante (GR)



22. Sintomi in Barbera  
Foto M. Conti



23. Sintomi su tralcio in Barbera  
Foto M. Conti



24. Sintomi in Barghigiana



25. Sintomi in Cabernet Sauvignon  
Foto P. Braccini



**26. Sintomi fogliari in Carmenere**  
Foto C. Frausin



**29. Sintomi in Cannella**



**27. Sintomi in foglia di Carmenere,**  
**a sinistra foglia sana** Foto C. Frausin



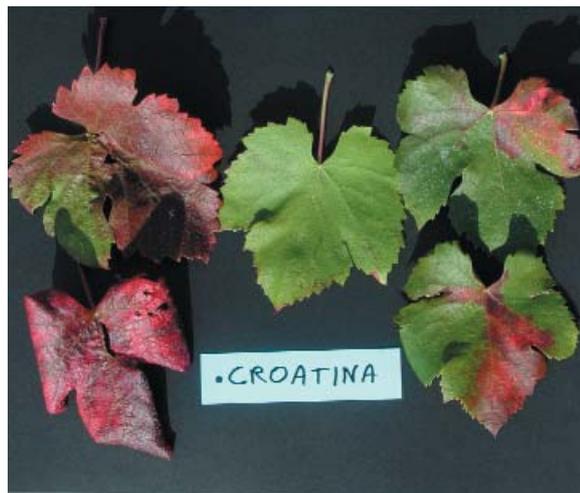
**30. Sintomi in Colorino**



**28. Sintomi in Casentino**



**31. Sintomi in pianta di Croatina**  
Foto P.A. Bianco



**32. Sintomi fogliari in Croatina, al centro foglia sana**  
Foto P.A. Bianco



**33. Sintomi fogliari in Cortese, al centro foglia sana**  
Foto P.A. Bianco



**34. Sintomi in Dolcetto**



**35. Sintomi fogliari in Favorita**  
Foto G. Bosio



**36. Sintomi in Favorita**  
Foto G. Bosio



**37. Sintomi in Foglia tonda**



**38. Sintomi fogliari in Foglia tonda**



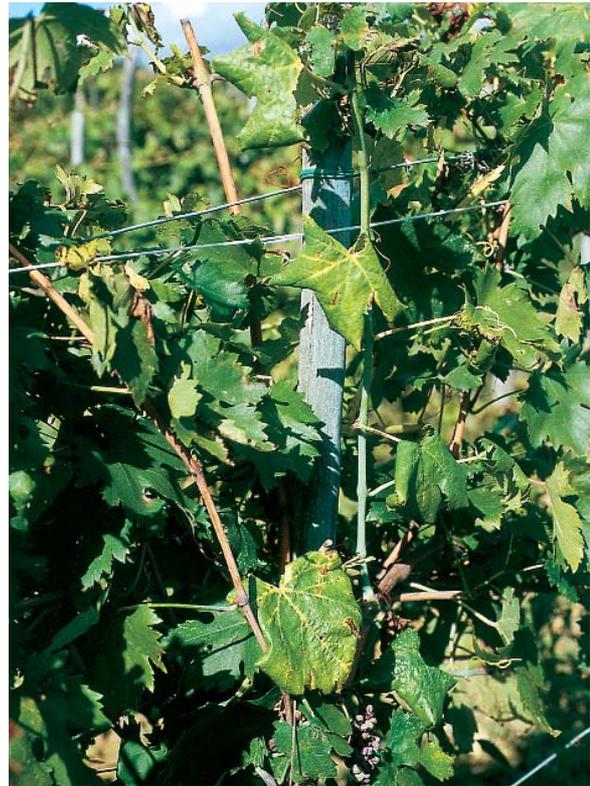
**39. Sintomi in Garganega**  
Foto P. Braccini



**40. Sintomi in foglia di Garganega**  
Foto P. Braccini



41. Sintomi in Gorgottesco



44. Sintomi in pianta di Grechetto



42. Sintomi in Granè



45. Sintomi in Grechetto



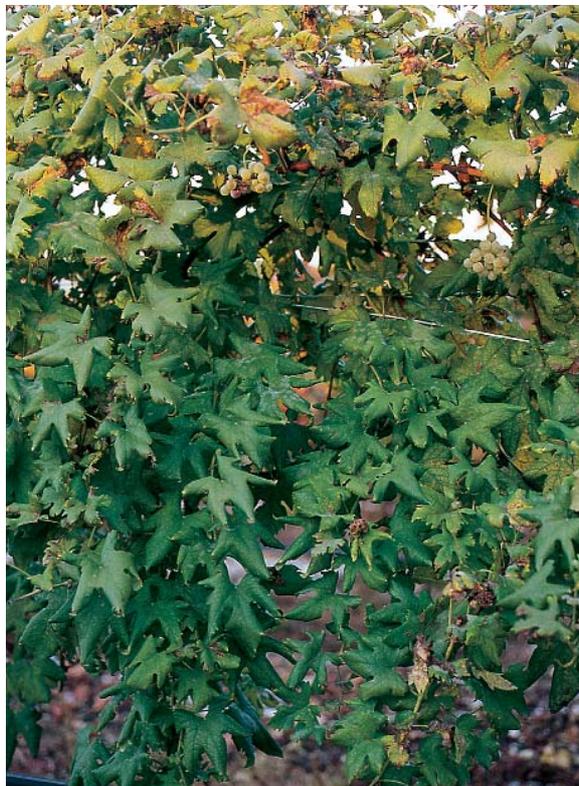
43. Sintomi in Lugliola rossa



**46. Sintomi fogliari in Malbec**  
Foto C. Frausin



**47. Sintomi in Malbec**  
Foto C. Frausin



**48. Sintomi in Malvasia gialla**  
Foto M. Borgo



49. Sintomi in foglie di Malvasia nera



50. Sintomi in Malvasia nera



51. Sintomi in Monferrato



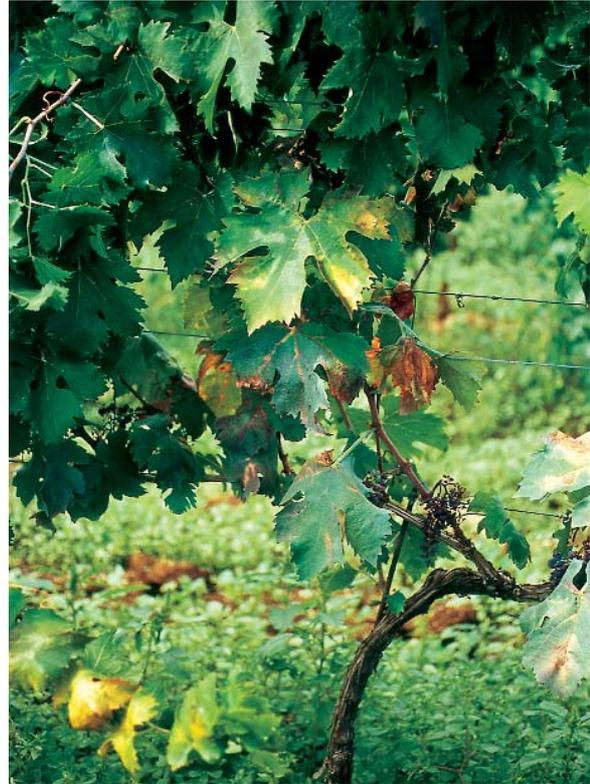
52. Sintomi in Monica



53. Sintomi in Moscato  
Foto G. Bosio



**54. Sintomi in Montepulciano**  
Foto P. Braccini



**57. Sintomi in foglie e grappolo di Montepulciano**  
Foto P. Braccini



**55. Sintomi in Morone**



**58. Sintomi in pianta di Morone**



**56. Sintomi in Ingannacane**



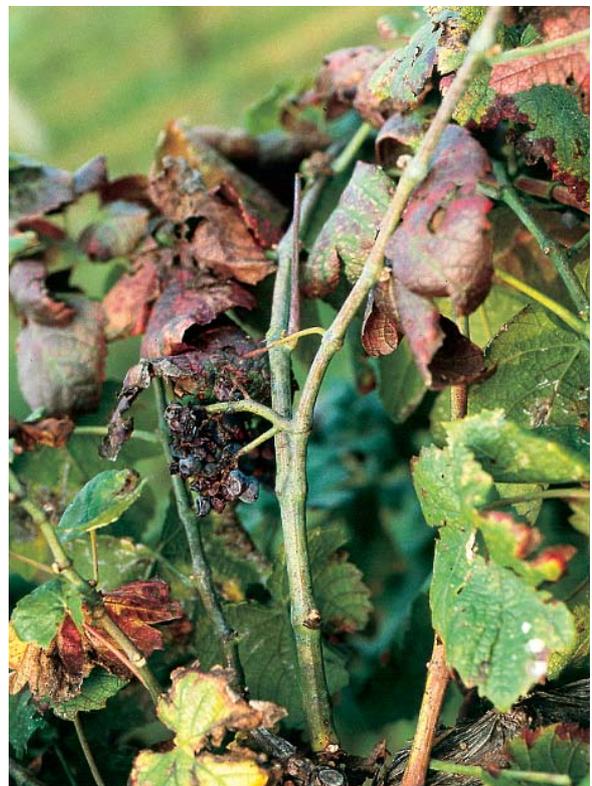
**59. Sintomi fogliari in Picolit**  
Foto C. Frausin



**60. Sintomi in Picolit**  
Foto C. Frausin



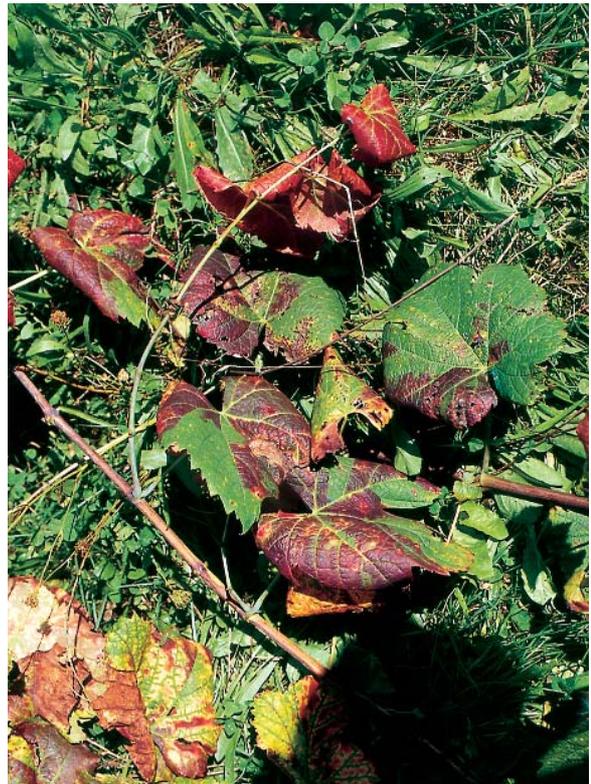
**61. Sintomi in Pinot nero**  
Foto M. Borgo



**62. Sintomi in foglie e grappolo di Pinot nero**  
Foto M. Borgo



**63. Sintomi in Pinot grigio**  
Foto M. Borgo



**66. Sintomi in Pollera**  
Foto P. Braccini



**64. Sintomi in Pisciancione**



**65. Sintomi in Primitivo di Gioia**



**67. Sintomi in Prosecco**  
Foto P. Braccini



68. Sintomi in Rapone



69. Sintomi in Raponcello



70. Sintomi in Refosco  
Foto C. Frausin



71. Sintomi in Refosco dal peduncolo rosso  
Foto C. Frausin



72. Sintomi in Rossone (FI)



75. Sintomi in Rossone (PI)



73. Sintomi in pianta di Sangiovese Elba



76. Sintomi in Sangiovese Elba



74. Sintomi in Sirigiolo



**77. Sintomi in foglia di Tocai**  
Foto C. Frausin



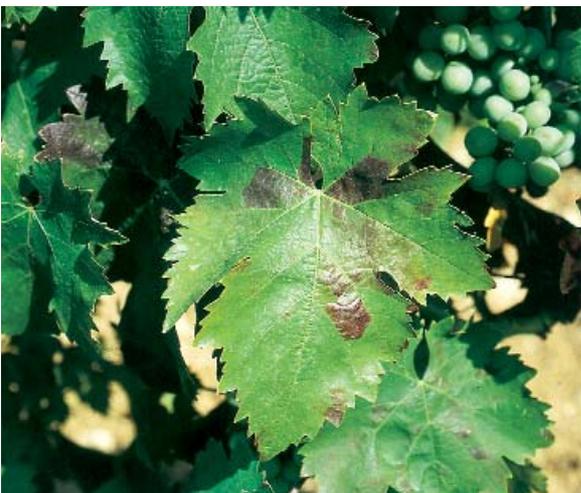
**78. Sintomi in Tocai**  
Foto C. Frausin



**79. Sintomi fogliari in Trebbiano toscano**  
Foto P. Braccini



**80. Sintomi in Trebbiano toscano**  
Foto G. Posenato



**81. Sintomi in Vaiano**



**82. Sintomi in Vaiano Rivalto**



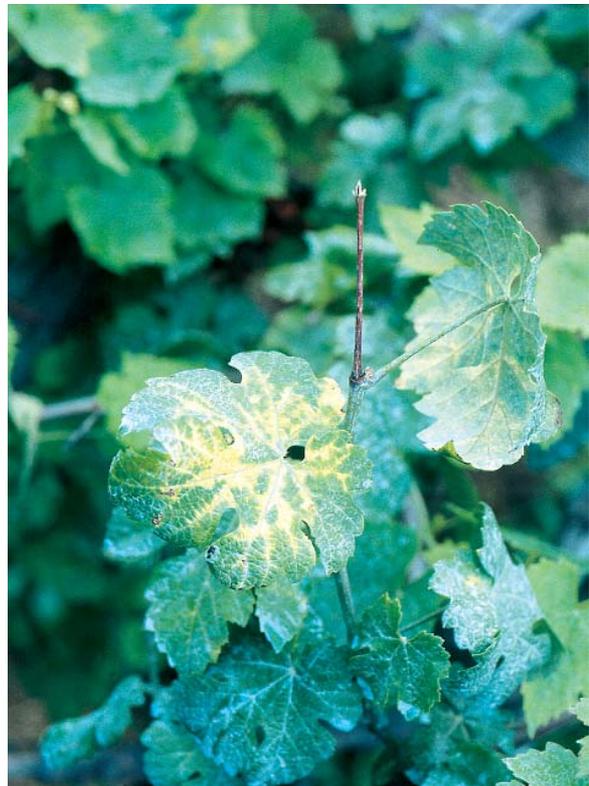
**83. Sintomi in Verduzzo Fr.**  
Foto C. Frausin



**86. Sintomi in Verduzzo Tr.**  
Foto C. Frausin



**84. Sintomi in foglia di Verduzzo Fr.**  
Foto C. Frausin



**87. Sintomi in Vermentino**  
Foto M. Conti



**85. Sintomi in Verduzzo Fr.**  
Foto C. Frausin



## **Gli Autori**

### **Alberto Alma**

DiVAPRA - Entomologia e Zoologia applicate  
all'Ambiente "Carlo Vidano", Università di Torino  
via Leonardo da Vinci, 44 - 10095 Grugliasco (TO)  
e-mail: alberto.alma@unito.it

### **Marina Barba**

Istituto Sperimentale per la Patologia Vegetale  
via C.G. Bertero, 22 - 00156 Roma  
e-mail: m.barba@ispave.it

### **Giuseppe Belli**

Istituto di Patologia Vegetale, Università di Milano  
via Celoria, 2 - 20133 Milano  
e-mail: giuseppe.belli@unimi.it

### **Assunta Bertaccini**

DiSTA, Patologia vegetale, Università di Bologna  
viale Fanin, 42 - 40127 Bologna  
e-mail: bertaccini\_a@biblio.cib.unibo.it

### **Piero Attilio Bianco**

Istituto di Patologia Vegetale, Università di Milano  
via Celoria, 2 - 20133 Milano  
e-mail: piero.bianco@unimi.it

### **Michele Borgo**

CRA - Istituto Sperimentale per la Viticoltura  
viale XXVIII Aprile, 26 - 31015 Conegliano (TV)  
e-mail: michele.borgo@ispervit.it

### **Simona Botti**

DiSTA, Patologia vegetale, Università di Bologna  
viale Fanin, 42 - 40127 Bologna  
e-mail: bertaccini\_a@biblio.cib.unibo.it

### **Piero Braccini**

ARSIA Regione Toscana  
via Pietrapiana, 30 - 50122 Firenze  
e-mail: p.braccini@arsia.toscana.it

### **Alberto Bressan**

Dipartimento di Agronomia ambientale  
e Produzioni vegetali, Sez. Entomologia  
Università di Padova - Agripolis  
via Romea, 16 - Legnaro (PD)  
e-mail: alberto.bressan@unipd.it

### **Luigi Carraro**

Dipartimento di Biologia Applicata  
alla Difesa delle Piante, Università di Udine  
via delle Scienze, 208 - 33100 Udine  
e-mail: luigi.carraro@uniud.it

### **Paola Casati**

Istituto di Patologia Vegetale, Università di Milano  
via Celoria, 2 - 20133 Milano  
e-mail: paola.casati@unimi.it

### **Maurizio Conti**

Istituto di Virologia Vegetale - CNR  
via Strada delle Cacce, 73 - 00135 Torino  
e-mail: m.conti@ivv.cnr.it

### **Carlo Frausin**

Regione Autonoma Friuli-Venezia Giulia  
Servizio Fitosanitario Regionale  
Ufficio periferico di Pordenone  
via Oberdan, 18 - 33170 Pordenone  
e-mail: carlo.frausin@regione.fvg.it

**Luciana Galetto**

DiVAPRA - Entomologia e Zoologia applicate  
all'ambiente "Carlo Vidano", Università di Torino  
via Leonardo da Vinci, 44 - 10095 Grugliasco (TO)  
e-mail: luciana.galetto@unito.it

**Vincenzo Girolami**

Dipartimento di Agronomia ambientale  
e Produzioni vegetali, Sez. Entomologia,  
Università di Padova - Agripolis  
via Romea, 16 - Legnaro (PD)  
e-mail: vincenzo.girolami@unipd.it

**Nazia Loi**

Dipartimento di Biologia Applicata  
alla Difesa delle Piante, Università di Udine  
via delle Scienze, 208 - 33100 Udine  
e-mail: nazia.loi@uniud.it

**Andrea Lucchi**

Dipartimento Coltivazione e Difesa  
delle Specie Legnose "G. Scaramuzzi",  
Sezione Entomologia agraria, Università di Pisa  
via San Michele degli Scalzi, 2 - 50124 Pisa  
e-mail: alucchi@agr.unipi.it

**Marta Martini**

Dipartimento di Biologia Applicata  
alla Difesa delle Piante, Università di Udine  
via delle Scienze, 208 - 33100 Udine  
e-mail: marta.martini@uniud.it

**Cristina Marzachi**

Istituto di Virologia Vegetale - CNR  
via Strada delle Cacce, 73 - 00135 Torino  
e-mail: c.marzachi@ivv.cnr.it

**Valerio Mazzoni**

Dipartimento Coltivazione e Difesa  
delle Specie Legnose "G. Scaramuzzi",  
Sez. Entomologia agraria, Università di Pisa  
via San Michele degli Scalzi, 2 - 50124 Pisa  
e-mail: vmazzoni@email.it

**Nicola Mori**

Agrea Centro Studi  
via G. Garibaldi, 5 - 37057 San Giovanni Lupatoto (VR)  
e-mail: nicola.mori@agrea.it

**Ruggero Osler**

Dipartimento di Biologia Applicata  
alla Difesa delle Piante, Università di Udine  
via delle Scienze, 208 - 33100 Udine  
e-mail: osler@uniud.it

**Alessandro Paoli**

ARSIA Regione Toscana  
via Scatena, 4 - Santa Margherita di Capannori  
55076 Capannori (LU)  
e-mail: a.paoli@arsia.toscana.it

**Graziella Pasquini**

Istituto Sperimentale per la Patologia Vegetale  
via C.G. Bertero, 22 - 00156 Roma  
e-mail: g.pasquini@ispave.it

**Francesco Pavan**

Dipartimento di Biologia Applicata  
alla Difesa delle Piante, Università di Udine  
via delle Scienze, 208 - 33100 Udine  
e-mail: francesco.pavan@uniud.it

**Gabriele Posenato**

Agrea Centro Studi  
via G. Garibaldi, 5 - 37057 San Giovanni Lupatoto (VR)  
e-mail: gabriele.posenato@agrea.it

**Giorgio Stefanelli**

ERSA Friuli-Venezia Giulia  
via Sabbatini, 5 - 33050 Pozzuolo del Friuli (UD)  
e-mail: giorgio.stefanelli@csa.fvg.it

**Giovanni Vettori**

ARSIA Regione Toscana  
via Pietrapiana, 30 - 50122 Firenze  
e-mail: g.vettori@arsia.toscana.it

**Alberto Villani**

ERSA Friuli-Venezia Giulia  
via Sabbatini, 5 - 33050 Pozzuolo del Friuli (UD)  
e-mail: alberto.villani@csa.fvg.it





# ARSIA, la comunicazione istituzionale al servizio dell'agricoltura

## L'attività editoriale

L'ARSIA svolge la propria attività editoriale attraverso una specifica linea, articolata in varie collane (monografie, quaderni tecnici, atti di convegni e seminari, manuali tecnici) e provvede direttamente alla loro diffusione. L'Agenzia regionale, infatti, pubblica i risultati di studi, ricerche e sperimentazioni, realizzati dai propri tecnici o commissionati

all'esterno, con l'intento di fornire attraverso la stampa (o utilizzando gli strumenti telematici) il materiale tecnico per la divulgazione e l'aggiornamento.

L'elenco aggiornato di tutte le pubblicazioni editate dall'ARSIA è consultabile in internet all'indirizzo:

[www.arsia.toscana.it/vstore](http://www.arsia.toscana.it/vstore)

## Collana Quaderni ARSIA

- 1/97. Supporti conoscitivi per l'attività di consulenza gestionale alle imprese agricole  
*a cura di G. Franchini, G. Lorenzini*
  - 2/97. Progetto di meccanizzazione di vigneti su pendici terrazzate a forte declività  
*a cura di M. Vieri, M. Giovannetti, P.P. Lorieri, S. Tarducci, M. Zoli, M. Beltrami*
  - 3/97. Indagine sugli aspetti ecologici ed economici dei vaccinieti nell'Appennino Tosco-emiliano  
*a cura di I. Ronchieri, T. Mazzei*
  - 4/97. L'analisi del processo decisionale in agricoltura secondo il modello EPAAV nell'applicazione a un caso concreto. *I. Malevolti*
  - 5/97. Vitigni extraregionali: osservazioni comparative sul comportamento agronomico e tecnologico di 17 cultivar a uva bianca in ambiente collinare toscano. *G. Di Collalto, S. Mancuso, R. Bandinelli*
  - 6/97. Alcuni vitigni regionali minori tradizionalmente coltivati in Toscana: principali caratteristiche descrittive  
*G. Di Collalto, R. Bandinelli*
  - 7/97. Osservazioni comparative su alcune forme di allevamento della vite in Toscana  
*G. Di Collalto, R. Bandinelli, P. Petroni*
  - 8/97. Osservazioni comparative sulla produttività delle viti e la maturazione dell'uva in alcuni cloni di vitigni toscani  
*G. Di Collalto, M. Giovannetti*
  - 9/97. Ricerche sul germoplasma viticolo della Toscana: 1. Vitigni a uva da colore  
*P.L. Pisani, R. Bandinelli, A. Camussi*
- 
- 1/98. Il bacino idrografico del torrente Sova in Casentino. Studio preliminare per la pianificazione degli interventi di sistemazione idraulico-forestale in un bacino montano. *R. Chiarini, C. Fani, M. Miozzo, G. Nocentini*
  - 2/98. Introduzione alla "Qualità" nel settore agroalimentare. *P. De Risi, R. Moruzzo*
  - 3/98. Linee guida per l'applicazione del D.Lgs. 155/97 nelle aziende agricole toscane. Settore vinicolo
  - 4/98. Linee guida per l'applicazione del D.Lgs. 155/97 nelle aziende agricole toscane. Settore oleicolo
  - 5/98. Linee guida per l'applicazione del D.Lgs. 155/97 nelle aziende agricole toscane. Settore miele
  - 6/98. Linee guida per l'applicazione del D.Lgs. 155/97 nelle aziende agricole toscane. Settore ortofrutticolo
  - 7/98. L'innovazione nell'agricoltura toscana. Analisi del fabbisogno e criteri per la definizione delle priorità di azione  
*G. Brunori*
  - 8/98. Il Vin Santo in Toscana. Composizione e caratteri sensoriali. *P. Buccelli, F. Giannetti, V. Faviere*

- 1/99. Linee guida per l'allevamento di galliformi destinati al ripopolamento e alla reintroduzione  
*F. Dessì Fulgheri, A. Papeschi, M. Bagliacca, P. Mani, P. Mussa*
- 2/99. Il latte ovino in Toscana. Indagine sulle aziende di produzione e studio dell'influenza dei fattori alimentari sulla qualità del latte
- 3/99. Rapporto sull'economia agricola della Toscana, *a cura di R. Pagni*
- 4/99. Strategie delle imprese agricole familiari e sviluppo rurale integrato, *a cura di I. Malevolti*
- 5/99. I danni causati dal cinghiale e dagli altri ungulati alle colture agricole. Stima e prevenzione
- 6/99. Linee guida per l'applicazione del D.Lgs. 155/97 nelle aziende agricole toscane. Settore cerealicolo
- 7/99. Il formaggio pecorino toscano, *a cura di R. Bizzarro*
- 8/99. Linee guida per l'applicazione del D.Lgs. 155/97 nella produzione delle conserve vegetali
- 9/99. Il legno di castagno e di douglasia della Toscana. Qualità del legno e selvicoltura.  
Classificazione e valori caratteristici del legname strutturale
- 1/2000. Le tecniche di immissione della piccola selvaggina. *R. Mazzoni della Stella*
- 2/2000. Risultati delle prove funzionali su linee gocciolanti integrali (Parte I). *M. Bertolacci*
- 3/2000. La coltivazione del fungo pioppino in Toscana. Valutazione della fattibilità tecnica ed economica di un sistema produttivo. *G. Nocentini, M. Coluccia, G. Gaggio, S. Salvadorini*
- 1/2001. L'oidio della vite in Toscana. *P. Cortesi, M. Ricciolini*
- 2/2001. Linee guida per la ricerca europea nel settore agricolo-forestale e della pesca. *G. Torta*
- 3/2001. L'igiene dei prodotti agroalimentari. Guida pratica
- 4/2001. Metodologie alternative di lotta alle parassitosi gastrointestinali degli ovini
- 1/2002. Il miele in Toscana. Miglioramento della qualità e valorizzazione
- 2/2002. Il monitoraggio fitosanitario delle foreste, *a cura di A. Guidotti*
- 3/2002. Risultati delle prove funzionali su linee gocciolanti integrali e irrigatori a pioggia. Parte II. *M. Bertolacci*
- 1/2003. Anagrafe bovina - Istruzioni per l'uso
- 2/2003. Uso razionale delle risorse nel florovivaismo: i fabbisogni energetici (+ CD). *M. Vieri, M. Ceccatelli*
- 3/2003. Come produrre energia dal legno. *G. Mezzalana, M. Brocchi Colonna, M. Veronese*
- 4/2003. Interventi di ingegneria naturalistica in Toscana. Prime esperienze di monitoraggio  
*A.L. Freschi, G. Nocentini, F. Dinardo*
- 5/2003. Macchine irroratrici agricole: controlli e tarature per una maggiore efficienza e sicurezza di impiego  
*R. Russu, M. Vieri*
- 1/2004. Miglioramento qualitativo delle produzioni vitivinicole e del materiale di propagazione  
*a cura di A. Gemmiti*
- 2/2004. Uso razionale delle risorse nel florovivaismo: i fertilizzanti  
*a cura di P. Baroncelli, S. Landi, P. Marzialetti, N. Scavo*
- 3/2004. Trasformare la comunicazione rurale. Scenari ed esperienze in alcuni paesi europei  
*G. Brunori, P. Proietti, A. Rossi*

- 4/2004. Un nuovo metodo ecologico per la prevenzione dei danni da uccelli alle colture agricole  
*E. Santilli, S. Azara, L. Galardi, L. Gorrieri, A. Perfetti*
- 5/2004. Uso razionale delle risorse nel florovivaismo: l'acqua (+ CD)  
*a cura di A. Pardossi, L. Incrocci, P. Marzialetti*
- 6/2004. Le colture dedicate ad uso energetico: il progetto Bioenergy Farm
- 7/2004. La produzione delle conserve vegetali, *M.G. Migliorini*
- 
- 1/2005. I tartufi minori in Toscana. Gli ambienti di crescita dei tartufi marzuolo e scorzone  
*L. Gardin*
- 2/2005. La corretta gestione della fermentazione alcolica. Guida pratica, *a cura di A. Gemmiti*
- 3/2005. Flavescenza dorata e altri giallumi della vite in Toscana e in Italia  
*a cura di A. Bertaccini e P. Braccini*

Finito di stampare  
nel luglio 2005  
da Press Service srl  
a Sesto Fiorentino (FI)  
per conto di  
ARSIA • Regione Toscana

Quaderno ARSIA 3/2005

## Flavescenza dorata e altri giallumi della vite in Toscana e in Italia

La viticoltura è una realtà economica fondamentale per la Toscana, da qui la necessità di approfondire le tematiche fitosanitarie relative a fenomeni che potrebbero comprometterne la crescita produttiva e qualitativa.

Tra i giallumi della vite, causati da agenti patogeni chiamati fitoplasmi, una malattia molto grave è la flavescenza dorata, che ha creato notevoli problemi alla viticoltura di diverse regioni del Nord Italia.

Grazie al contributo di numerosi e qualificati studiosi, in questo Quaderno ARSIA 3/2005 vengono affrontati tutti gli aspetti legati a tali patogeni e in modo particolare alla flavescenza dorata e al legno nero, altro importante giallume della vite.

Una prima parte della trattazione riguarda le origini e la diffusione in Toscana e in Italia della malattia, per poi passare alla sua diagnosi, alla sintomatologia e alla descrizione degli insetti vettori. A seguire sono state esaminate anche l'epidemiologia e le misure di controllo della flavescenza dorata e del legno nero. Nell'ultima parte sono riportate sia la normativa di lotta obbligatoria alla malattia e al suo vettore *Scaphoideus titanus*, sia la descrizione di un progetto di ricerca nazionale finanziato dal Ministero per le Politiche Agricole e Forestali. La pubblicazione si conclude con una sezione illustrata dei sintomi di giallume su alcuni dei più importanti vitigni, per favorire il riconoscimento della malattia da parte di tecnici e operatori del settore vitivinicolo.



**L'ARSIA, Agenzia Regionale per lo Sviluppo e l'Innovazione nel settore Agricolo-forestale, istituita con la Legge Regionale 37/93, è l'organismo tecnico operativo della Regione Toscana per le competenze nel campo agricolo-forestale, acquacoltura-pesca e faunistico-venatorio.**

REGIONE  
TOSCANA



€ 10,00 (i.i.)