

1222-2022
800
ANNI



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento Territorio e Sistemi Agro-Forestali (TESAF)

Scuola di agraria e medicina veterinaria

Corso di Laurea in

SCIENZE E TECNOLOGIE AGRARIE (STAG)

Epidemiologia e controllo della Flavescenza dorata

Epidemiology and control of Flavescence dorée

Relatore: Prof.ssa Rita Musetti

Correlatore: Prof. Francesco Favaron

Laureanda: Martina Corazza

Matricola: 1223585

ANNO ACCADEMICO 2021-2022

A Te, **nonno Achille**, vorrei tu fossi qui oggi, ma so che, anche da lassù, sei con me.

Grazie **mamma e papà**, per aver creduto in me, questo giorno lo devo a voi.

Ai **miei nonni**, forze irrefrenabili della natura.

Alle **mie sorelle**, spero siate fiere di me.

A **Elisa e Cristina**, grazie per esserci state sempre, in ogni momento.

Grazie al mio relatore,
prof.ssa Rita Musetti, per avermi guidato e consigliato nella stesura dell'elaborato.

Indice

1. Abstract	4
2. I giallumi della vite.....	5
3. I fitoplasmi	7
3.1. Classificazione-tassonomia	9
3.2. Sintomologia	14
3.3. Trasmissione	17
3.4. Gli effettori	18
4. Scaphoideus titanus	19
4.1 Ciclo e fasi di sviluppo	20
4.2 Il controllo	22
4.3 Il fenomeno del recovery	24
4.4 Il monitoraggio	25
5. Il Legno nero	26
5.1 Il monitoraggio	28
5.2 Il controllo	28
6. Conclusioni	29
7. Bibliografia.....	30
8. Sitografia.....	38

1. ABSTRACT

In questa tesi verrà trattato il tema della Flavescenza dorata, una malattia associata a fitoplasmi, di gravità elevata, comparsa per la prima volta in Francia e diffusasi successivamente in Piemonte, Lombardia, Veneto, Friuli-Venezia Giulia, Emilia-Romagna. La Flavescenza dorata, assieme al Legno nero (Bois noir) fa parte di un gruppo di malattie definite "giallumi della vite" (Grapevine Yellows, GY), associate a fitoplasmi.

I sintomi di Flavescenza dorata e Legno nero sono molto simili ma la loro epidemiologia è differente.

I fitoplasmi sono procarioti fitopatogeni obbligati, quindi non coltivabili in vitro, che risiedono nei tubi cribrosi del floema e sono associati a centinaia di malattie a livello mondiale, non solo a carico di piante di interesse agrario, ma anche ornamentali, arboree e arbustive. I fitoplasmi appartengono alla classe *Mollicutes* phylum *Tenericutes*, sono privi di parete cellulare e dotati solamente di membrana cellulare lipoproteica. L'assenza della parete conferisce loro diverse morfologie, per cui vengono definiti pleomorfi.

Nella vite, le malattie associate a fitoplasmi si manifestano con sintomi come ingiallimenti o arrossamenti delle foglie (variabili a seconda della varietà), accartocciamento dei margini fogliari verso il basso, sviluppo stentato, necrosi nervale e filloptosi anticipata. I tralci non lignificano correttamente, si incurvano e spesso non superano l'inverno perché non resistenti al gelo. Inoltre, sui tralci possono comparire pustole nere oleose. Gli acini vanno incontro a disidratazione e il grappolo si secca.

Il vettore della Flavescenza dorata è *Scaphoideus titanus*, una cicalina che compie una generazione l'anno; è un insetto vettore che preleva il fitoplasma da una pianta malata e, nel giro di qualche giorno, lo trasferisce ad una pianta sana.

La lotta alla Flavescenza è obbligatoria per legge ma risulta essere molto complicata: non esistono mezzi curativi, l'unica possibilità di controllo è data dalla lotta al vettore mediante insetticidi.

Il controllo sul materiale vegetale si effettua con metodi per contrastare la diffusione del patogeno quali l'applicazione della quarantena, evitando cioè il contatto delle piante malate con quelle sane, regolato secondo la lista A2 della EPPO.

Nella tesi verrà trattato anche il fenomeno del recovery ovvero della guarigione spontanea della pianta, fenomeno che ancora oggi è oggetto di studio e osservazione ma che potrebbe dare alternative agli attuali metodi di controllo delle fitoplasmosi.

2. I GIALLUMI DELLA VITE

I giallumi della vite (GY), come sostenuto da **Belli et al., (2010)** sono un gruppo di malattie che colpisce *Vitis vinifera*; all'inizio si supponeva che fossero associate a virus, ma in seguito fu dimostrato che erano invece associate a fitoplasmi.

Le prime segnalazione di giallumi provengono dal sud della Francia, intorno al 1950 e in seguito anche dal resto del mondo, a partire dalla Germania (**Rafaila, 1970**), Romania (**Costache, 1970**), Israele (**Tanne & Nitzany, 1973**), Grecia (**Rumbos, 1979**) fino ad arrivare all' America (**Pearson et al., 1985**), Cile (**Caudwell, 1980**) e Australia (**Magarey & Watchel, 1982**).

In Italia invece, i primi sintomi riferibili a giallumi furono osservati nei vigneti dell'Alto Adige (**Zelger, 1964**) A seguire Lombardia (**Belli et al., 1973**), Veneto (**Belli et al., 1983; Egger, 1983**), Friuli-Venezia Giulia (**Carraro et al., 1986**), ed Emilia-Romagna (**Credi & Babini, 1984**). Ben presto però venne colpito anche il sud Italia, partendo dalla Sicilia (**Albanese et al., 1996**) e a seguire il resto del paese.



Figura 1: Mappa dell'Italia che descrive la progressiva diffusione dei giallumi nelle diverse regioni. G. Belli, P.A. Bianco, and M. Conti (*Journal of Plant Pathology*, July 2010, Vol. 92, No. 2 (July 2010), pp. 303-326).

Attualmente i giallumi sono presenti in tutte le aree viticole del mondo, dall'Australia all'America e mostrano sintomatologia simile ma gli agenti causali sono differenti. I fitoplasmi associati appartengono a specie molecolari diverse come dichiarato da **Daire et al., (1993); Prince et al., (1993); Davis et al., (1997)**.

Questo sottolinea come le diversità tra i vari fitoplasmi aumentino le difficoltà di trovare un sistema di lotta efficace, al fine di limitare i danni economici e salvaguardare la pianta.

GY disease	phytoplasma name	ribosomal group (and subgroup)	known insect vector to grapevine	preferred host plants of vector	Occurrence	Other natural vectors of phytoplasma in the same group
Flavescence dorée	FD	EY or 16SrV (-C, -D)	<i>Scaphoideus titanus</i> Ball	<i>Vitis</i> sp	France, Italy, Spain	
Palatinate Grapevine Yellows	PGY	EY or 16SrV	<i>Oncopsis alni</i> Schrank	<i>Alnus glutinosa</i> L.	Germany	<i>S. luteolus</i> (A) <i>Macropsis</i> sp (E).
Bois noir, Legno nero, Vergilbungs-krankheit	stolbur	stolbur or 16SrXII-A	<i>Hyalesthes obsoletus</i> Sign	<i>Convolvulus arvensis</i> L. <i>Urtica dioica</i> L. <i>Ranunculus</i> , <i>Solanum</i> <i>Lavandula</i>	Europe, Israel, Lebanon	<i>Pentastiridius</i> sp. (Cixiidae) (E) (<i>Macrosteles quadripunctulatus</i>)
Australian grapevine yellows	<i>Candidatus</i> Phytoplasma australiense	stolbur or 16SrXII-B	ND	ND	Australia	<i>Oliarius arkinsoni</i> (Cixiidae) (NZ)
Australian grapevine yellows	Tomato big bud	FBP or 16SrII	ND	ND	Australia	<i>Oriosus argentatus</i> (Aus)
Buckland valley grapevine yellows	BVGY	AY or 16SrI-related	ND	ND	Australia	
Grapevine yellows	aster yellows	AY or 16SrI-A	ND	ND	Italy	<i>Euscelis</i> , <i>Dalbulus</i> <i>Macrosteles</i>
Nth-American grapevine yellows	Western X	W-X or 16SrIII-I	ND	ND	New York, Virginia	<i>Colladonus</i>

Tabella 1: Patogeni associati a giallumi nelle varie parti del mondo, insetti vettori e la loro diffusione. FONTE: E. Boudon-Padieu in "The situation of grapevine yellows and current research directions: distribution, diversity, vectors, diffusion, and control. Boudon-Padieu, E. (2003, settembre). La situazione dei gialli di vite e gli attuali indirizzi di ricerca: distribuzione, diversità, vettori, diffusione e controllo. In Atti del XV Convegno Internazionale di Virus e Malattie Virus-simili della Vite (pp. 47-53). Locorotondo (Italia).

In Europa i più importanti giallumi sono la Flavescenza dorata (*Flavescence dorée*, FD) e il Legno Nero (*Bois noir*, BN). Le viti colpite presentano gli stessi sintomi e per distinguere le due malattie è necessario effettuare un test molecolare per identificare l'agente patogeno associato (**Conti & Alma, 2002**).

Come riportato anche da **Caldwell et al., (1971^o)** FD è associata ad un fitoplasma per il quale è stato proposto il nome '*Candidatus Phytoplasma vitis*' ('*Ca. P. vitis*') ed è trasmessa da *Scaphoideus titanus* mentre il BN ed è associato a '*Candidatus Phytoplasma solani*' ('*Ca. P. solani*') e trasmesso da *Hyalesthes obsoletus*.

3. I FITOPLASMI

I fitoplasmi sono procarioti privi di parete cellulare, il cui citoplasma è racchiuso in una duplice membrana lipoproteica. L'assenza della parete conferisce ai fitoplasmi diverse forme e per tale motivo sono detti pleomorfi: le loro forme hanno dimensioni variabili comprese fra i 200 e 800 nm, oppure di forma allungata (**Bertaccini, 2007**).

Sono patogeni obbligati, non si possono riprodurre in vitro e sopravvivono esclusivamente nei tubi cribrosi del floema o nell'emolinfa degli insetti. Sono infatti biotrofi, per cui la presenza e la vitalità dell'ospite è essenziale per la loro sopravvivenza (**Bertaccini & Duduk, 2009**).

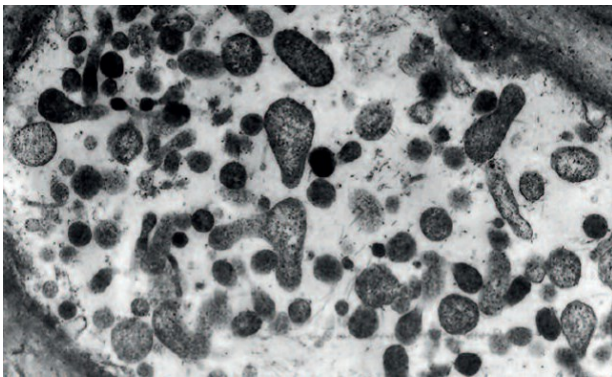


Figura 2: Pleomorfismo dei fitoplasmi (Foto da M. Bellardi e A. Bertaccini UniBo).

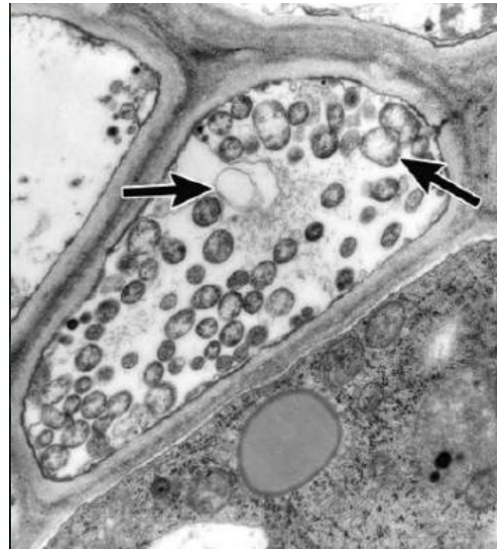


Figura 3: Osservazione al microscopio elettronico di sezione trasversale di un tubo cribroso con fitoplasmi (foto da Alberto Materazzi, UniP).

Il genoma dei fitoplasmi è molto piccolo, varia tra le 600 e 1500 kb (spesso vengono associati a plasmidi) e, da recenti studi condotti da **Debonneville et al., 2022**, grazie all'avvento di nuove tecnologie di sequenziamento, è emerso che il genoma è circolare e con un contenuto di G+C del 21.7%, che lo colloca tra le specie con la più bassa concentrazione di G+C. Sono stati individuati 506 geni codificanti per proteine (protein-coding genes, CDS), 32 geni del tRNA e 2 operoni del rRNA. Quasi tutta la totalità del cromosoma (77%) è occupata da CDS.

Le proteine codificate dal genoma vengono riferite a diverse classi di geni, le "GO" (Gene Ontology) e sono suddivise a seconda delle funzioni nei diversi processi cellulari in:

- processo biologico
- componente cellulare
- funzione molecolare

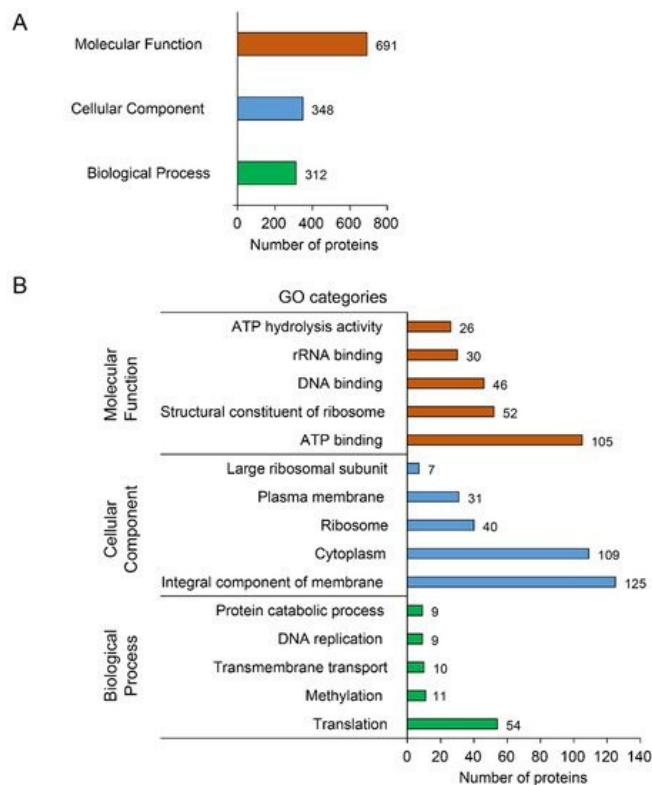


Figura 4: Grafico a barre che rappresenta la distribuzione dei gruppi di GO nel genoma del fitoplasma associato a Flavescentia dorata. Da Debonneville et al., 2022. The Complete Genome of the “Flavescentia Dorée” Phytoplasma Reveals Characteristics of Low Genome Plasticity.

Inoltre, il genoma può avere un alto numero di unità mobili e di ripetizioni, che fanno supporre un’elevata plasticità del genoma (Chung et al., 2013; Huang et al., 2022). Il numero di geni contenuti nel genoma è basso, varia da 475 a 1000 geni circa e i fitoplasmi sono caratterizzati dall’aver ridotto notevolmente le funzioni metaboliche ed è per tale motivo che, per sopravvivere, sono costretti a importare dall’esterno gli elementi essenziali per la sopravvivenza; si è anche osservato che il genoma possiede 40 geni coinvolti nel trasporto (Debonneville et al., 2022).

Si ipotizza che l’antenato dei fitoplasmi possa essere *Acholeplasma laidlawii*, un procariote ancestrale che possiede triplette UGG codificanti per il triptofano (Bertaccini et al., 2009; Debonneville et al., 2022).

I fitoplasmi sono dotati di geni per la replicazione del DNA, trascrizione, trasduzione e trasporto delle proteine (Kakizawa et al., 2001; Jung et al., 2003) ma hanno bassa capacità biosintetica a causa del numero limitato di geni che codificano per la sintesi degli steroli, degli acidi grassi, dei nucleotidi e della maggior parte degli amminoacidi motivo per cui, dipendono esclusivamente dal loro ospite (Razin et al., 1998).

Inoltre, hanno perso i geni necessari alla produzione di energia (sottoforma di ATP) come quelli che codificano gli enzimi necessari al ciclo dei pentoso fosfati, alla fosforilazione ossidativa e al ciclo degli acidi tricarbossilici (Oshima et al., 2004; Bai et al., 2006; Oshima et al. 2007).

La glicolisi (data l’assenza di geni che codificano per ATP sintasi) rappresenta la via metabolica più importante che, con l’ausilio di enzimi come la malico deidrogenasi e la acetato chinasi, porta alla produzione dell’ATP necessario per la sussistenza dei fitoplasmi. Fa eccezione *‘Ca. P. mali’* in cui il piruvato viene prodotto da una via alternativa alla glicolisi e porta il gene dell’aldolasi 2-deidro-3-deossifosfoglionato (Kube et al., 2008; 2012).

I fitoplasmi sono associati a malattie che colpiscono gravemente oltre 700 piante tra erbacee e legnose, piante di interesse alimentare, agricolo e ornamentale e l’elenco dei fitoplasmi che causano malattie è in continuo aggiornamento (Bertaccini, 2009).

Vennero osservati per la prima volta nel **1967** da **Doi et al.**, un gruppo di scienziati giapponesi che notarono la presenza di microrganismi privi di parete cellulare nel floema di Paulownia, pianta affetta da una patologia detta "scopazzi". In seguito, **Caldwell et al., (1971a)** trovarono gli stessi organismi anche nei tessuti di vite colpiti dalla FD. Data la loro somiglianza ai micoplasmi, venne inizialmente dato loro il nome di MLOs (Mycoplasma-like organisms) ma solo in seguito, nel 1994, vennero denominati "fitoplasmi" proprio per distinguerli dai micoplasmi, che colpiscono gli animali (uomo compreso) e che possono essere coltivati in vitro (**Seemüller et al., 1998; Belli et al., 2010**).

Per quanto riguarda la diagnosi, negli anni '80 sono stati messi a punto i primi test sierologici con anticorpi monoclonali e policlonali, come il test ELISA (E.L.I.S.A. = Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) (**Schwartz et al., 1989**) ma anche immunosaggi e test di immunofluorescenza; tuttavia non sono stati utili per l'identificazione di fitoplasmi nella vite ed è stato necessario ricorrere a test molecolari, introdotti negli anni '90, che si basano su l'uso di sonde molecolari (**Bertaccini et al., 1993**) ma anche di PCR, reazione a catena della polimerasi e l'uso di enzimi di restrizione (RFLP: restriction fragment length polymorphism) che consentono di individuare variazioni (polimorfismi) nella sequenza di DNA amplificata (**Ahrens & Seemüller, 1992; Lee et al., 1998**).

La tecnica consente di amplificare la regione 16S del DNA ribosomiale mediante PCR utilizzando primers universali e di ottenere successivamente la frammentazione degli ampliconi con enzimi specifici (RLFP).

I fitoplasmi vengono caratterizzati attraverso la comparazione del DNA ribosomiale, 16srRNA (**Tolu et al., 2006**) e nel caso specifico della FD, il fitoplasma associato a questa malattia appartiene al gruppo del "Giallume dell'olmo" (EY = elm yellows) o gruppo V (16SrV). Sono stati identificati due sottogruppi C e D (**Bertaccini et al., 1997**).

Nel prossimo paragrafo tratteremo meglio il tema molto complesso della classificazione.

3.1 CLASSIFICAZIONE-TASSONOMIA

I fitoplasmi appartengono al phylum *Tenericutes* (dal latino "pelle morbida") e alla classe *Mollicutes* e sono caratterizzati proprio dalla assenza di parete cellulare che invece è presente nei batteri (**Lee et al., 1998; Wei et al., 2007**).

I fitoplasmi appartengono al genere '*Candidatus Phytoplasma*' (International Research Programme on Comparative Mycoplasmaology, IRPCM, 2004) ha stabilito che una specie può appartenere al genere '*Ca. P.*' se la sua sequenza genica di 16SrRNA è uguale al 97.5% di quella originale e deve avere una sequenza genica maggiore di 1200bp.

Grazie agli strumenti molecolari PCR/RFLP è stato possibile determinare le sequenze nucleotidiche di DNA che codificano per l'rRNA ribosomiale e proprio sulla base delle differenze ribosomiali del gene 16S rRNA, è stato possibile distinguere e classificare i vari fitoplasmi (**Lee et al., 1993; Schneider et al., 1993; Seemüller et al., 1994**).

La classificazione si basa sul polimorfismo di lunghezza del frammento di restrizione (RFLP) in cui sono stati suddivisi in 19 gruppi e in più di 50 sottogruppi. (**Lee et al., 1998a; Seemüller et al., 1998**).

Ogni ceppo di fitoplasmi viene indentificato con 16Sr seguito da un numero romano e se serve, dalla lettera maiuscola che indica i sottogruppi.

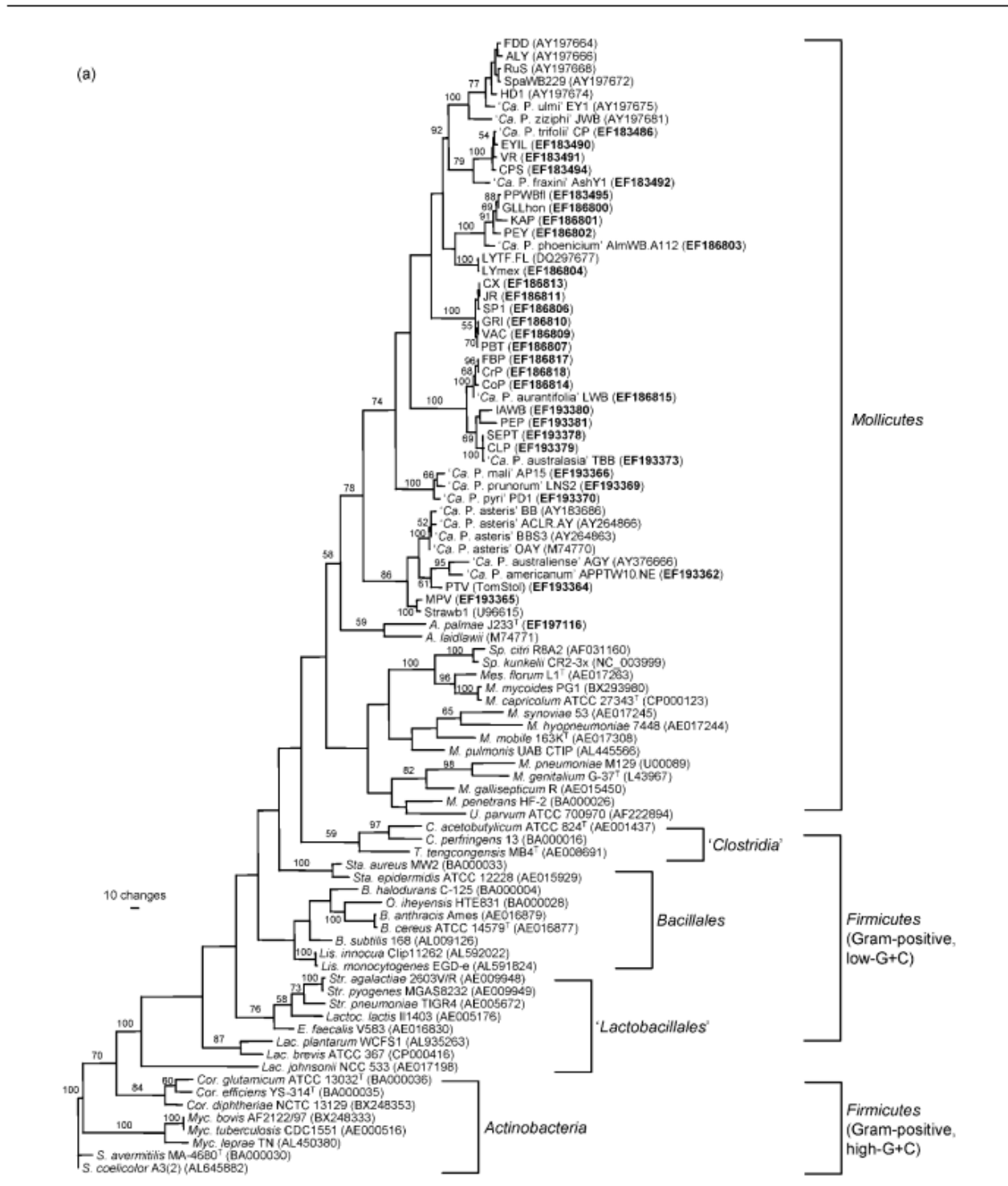
Figura 5: Tabella 2: Classificazione dei fitoplasma sulla base di analisi RFLP di sequenze di geni 16Sr RNA (16Sr) e proteina ribosomiale (rp), da Lee *et al.*, 1998.

16Sr group	Phytoplasma strain (acronym)	GenBank acc. No.	Reference
16SrI: Aster yellows			
I-A	Aster yellows witches' broom (AYWB)	NC_007716	Bai <i>et al.</i> , 2006
I-A	Tomato big bud (BB)	L33760	Lee <i>et al.</i> , 1992
I-B	Onion yellows mild strain (OY-M)	NC_005303	Oshima <i>et al.</i> , 2004
I-B	'Ca. P. asteris', aster yellows (MAY)	M30790	Lee <i>et al.</i> , 2004a
I-C	Clover phyllody (CPh)	AF222065	Lee <i>et al.</i> , 2004a
I-D	Paulownia witches' broom (PaWB)	AY265206	Lee <i>et al.</i> , 2004a
I-E	Blueberry stunt (BBS3)	AY265213	Lee <i>et al.</i> , 2004a
I-F	Aster yellows apricot - Spain (A-AY)	X68338 AY265211	Kison, 1992 * Lee <i>et al.</i> , 2004a
I-I	Strawberry witches' broom (STRAWB1)	U96614	Jomantiene <i>et al.</i> , 1998
I-K	Strawberry witches' broom (STRAWB2)	U96616	Jomantiene <i>et al.</i> , 1998
I-L	Aster yellows (AV2192)	AY180957	Lee <i>et al.</i> , 2003
I-M	Aster yellows (AVUT)	AY265209	Lee <i>et al.</i> , 2004a
I-N	Aster yellows (IoWB)	AY265205	Lee <i>et al.</i> , 2004a
I-O	Soybean purple stem (SPS)	AF268405	Lee <i>et al.</i> , 2002
I-P	Aster yellows from <i>Populus</i> (PopAY)	AF503568	Šeruga <i>et al.</i> , 2003
I-Q	Cherry little leaf (ChLL)	-	Valiunas <i>et al.</i> , 2006
I-R	Strawberry phylloid fruit (StrawbPhF)	AY102275	Jomantiene <i>et al.</i> , 2002a
16SrII: Peanut WB			
II-A	Peanut witches' broom (PnWB)	L33765	Gundersen <i>et al.</i> , 1994
II-B	'Ca. P. aurantifolia', witches' broom of lime (WBDL)	U15442	Zreik <i>et al.</i> , 1995
II-C	Faba bean phyllody (FBP)	X83432	Seemüller <i>et al.</i> , 1998
II-D	Sweet potato little leaf (SPLL)	AJ289193	Gibb <i>et al.</i> , 1995
II-E	<i>Pichris echioides</i> phyllody (PEY)	Y16393	Seemüller <i>et al.</i> , 1998
II-F	Cotton phyllody (CoP)	EF186827	Martini <i>et al.</i> , 2007
16SrIII: X-disease			
III-A	Western X-disease (WX)	AF533231	Liefting and Kirkpatrick, 2003
III-B	Clover yellow edge (CYE)	L33766 8	Gundersen <i>et al.</i> , 1994
III-C	Pecan bunch (PB)	EF186807	Martini <i>et al.</i> , 2007
III-D	Goldenrod yellows (GR1)	EF186810	Martini <i>et al.</i> , 2007
III-E	Spiraea stunt (SP1)	AF190228	Jomantiene and Davis, 1999*
III-F	Milkweed yellows (MW1)	AF510724	Davis and Dally, 2002*
III-G	Walnut witches' broom (WWB)	AF190226 AF190227	Jomantiene and Davis, 1999*
III-H	Poinsettia branch-inducing (PoiBI)	AF190223	Jomantiene and Davis, 1999*
III-I	Virginia grapevine yellows (VGYIII)	AF060875	Davis <i>et al.</i> , 1998

16Sr group	Phytoplasma strain (acronym)	GenBank acc. No.	Reference
III-J	Chayote witches' broom (ChWBIII)	AF147706 AF1477067	Montano <i>et al.</i> , 2000
III-K	Strawberry leafy fruit (SLF)	AF274876	Jomantiene and Davis, 2000*
III-L	Cassava frog skin disease (CFSD)	EU346761	Alvarez <i>et al.</i> , 2009
III-P	Dandelion virescence (DanV)	AF370119 AF370120	Jomantiene and Davis, 2001*
III-Q	Black raspberry witches' broom (BRWB7)	AF302841	Davis <i>et al.</i> , 2001
III-T	Sweet and sour cherry (ChD)	FJ231728	Valiunas <i>et al.</i> , 2009
III-U	Cirsium white leaf (CWL)	AF373105 AF373106	Jomantiene <i>et al.</i> , 2002b
16SrIV: Coconut lethal yellows			
IV-A	Coconut lethal yellowing (LYJ-C8)	AF498307	Harrison <i>et al.</i> , 2002
IV-B	Yucatan coconut lethal decline (LDY)	U18753	Harrison <i>et al.</i> , 1994
IV-C	Tanzanian coconut lethal decline (LDT)	X80117	Harrison <i>et al.</i> , 1994
16SrV: Elm yellows			
V-A	' <i>Ca. P. ulmi</i> ', elm yellows (EY)	AY197655	Lee <i>et al.</i> , 2004b
V-B	' <i>Ca. P. ziziphi</i> ', jujube witches' broom, (JWB-G1)	AB052876	Jung <i>et al.</i> , 2003a
V-C	Alder yellows (ALY882)	AY197642	Lee <i>et al.</i> , 2004b
V-C	Flavescence dorée (FD-C)	X76560	Daire <i>et al.</i> , 1992
V-D	Flavescence dorée (FD-D)	AJ548787	Torres <i>et al.</i> , 2005
V-E	Rubus stunt (RuS)	Y16395	Seemüller <i>et al.</i> , 1998
16SrVI: Clover proliferation			
VI-A	' <i>Ca. P. trifolii</i> ', clover proliferation (CP)	AY390261	Hiruki and Wang, 2004
VI-B	Strawberry multiplier disease (SMPD)	AF036354	Jomantiene <i>et al.</i> , 1998
VI-C	Illinois elm yellows (ILEY)	AF268895 AF409069 AF409070	Jacobs <i>et al.</i> , 2003
16SrVII: Ash yellows			
VII-A	' <i>Ca. P. fraxini</i> ', ash yellows (AshY)	AF092209	Griffiths <i>et al.</i> , 1999
VII-B	Erigeron witches' broom (ErWB)	AY034608	Barros <i>et al.</i> , 2002
16SrVIII: Loofah witches' broom			
VIII-A	Loofah witches' broom (LufWB)	AF086621	Ho <i>et al.</i> , 2001
16SrIX: Pigeon pea witches' broom			
IX-A	Pigeon pea witches'-broom (PPWB)	AF248957	Davis and Dally, 2000*
IX-B	' <i>Ca. P. phoenicium</i> ', almond witches' broom (AIWB)	AF515636 AF515637	Verdin <i>et al.</i> , 2002
IX-C	Naxos periwinkle virescence (NAXOS)	-	Duduk <i>et al.</i> , 2008

16Sr group	Phytoplasma strain (acronym)	GenBank acc. No.	Reference
16SrX: Apple proliferation			
X-A	' <i>Ca. P. mali</i> ', apple proliferation (AP)	AJ542541	Seemüller and Schneider, 2004
X-B	' <i>Ca. P. prunorum</i> ', European stone fruit yellows (ESFY)	AJ542544	Seemüller and Schneider, 2004
X-C	' <i>Ca. P. pyri</i> ', pear decline (PD)	AJ542543	Seemüller and Schneider, 2004
X-D	' <i>Ca. P. spartii</i> ', spartium witches' broom (SpaWB)	X92869	Marcone <i>et al.</i> , 2004a
X-E	Black alder witches' broom (BAWB) or Buckthorn witches' broom (BWB)	X76431	Seemüller <i>et al.</i> , 1994
16SrXI: Rice yellow dwarf			
XI-A	' <i>Ca. P. oryzae</i> ', rice yellow dwarf (RYD)	AB052873	Jung <i>et al.</i> , 2003b
XI-B	Sugarcane white leaf (SCWL)	X76432	Lee <i>et al.</i> , 1997b
XI-C	Leafhopper-borne (BVK)	X76429	Seemüller <i>et al.</i> , 1994
16SrXII: Stolbur			
XII-A	Stolbur (STOL)	X76427	Seemüller <i>et al.</i> , 1994
XII-B	' <i>Ca. P. australiense</i> ', Australian grapevine yellows (AUSGY)	L76865	Davis <i>et al.</i> , 1997
16SrXIII: Mexican periwinkle virescence			
XIII-A	Mexican periwinkle virescence (MPV)	AF248960	Dally <i>et al.</i> , 2000 ^a
XIII-B	Strawberry green petal, Florida	U96616	Jomantiene <i>et al.</i> , 1998
16SrXIV: Bermudagrass white leaf			
XIV-A	' <i>Ca. P. cynodontis</i> ' bermudagrass white leaf (BGWL)	AJ550984	Marcone <i>et al.</i> , 2004b
16SrXV: Hibiscus witches'-broom			
XV-A	' <i>Ca. P. brasiliense</i> ', hibiscus witches' broom (HibWB)	AF147708	Montano <i>et al.</i> , 2001
16SrXVI: Sugarcane yellow leaf syndrome			
XVI-A	' <i>Ca. P. graminis</i> '	AY725228	Arocha <i>et al.</i> , 2005
16SrXVII: Papaya bunchy top			
XVII-A	' <i>Ca. P. caricae</i> '	AY725234	Arocha <i>et al.</i> , 2005
16SrXVIII: American potato purple top wilt			
XVIII-A	' <i>Ca. P. americanum</i> '	DQ174122	Lee <i>et al.</i> , 2006b
16SXIX: Cassia witches'-broom			
16SXIX-A	' <i>Ca. P. omanense</i> '	EF666051	Al-Saady <i>et al.</i> , 2008

Tabella 2: Albero filogenetico basato sull'analisi di sequenze dei geni 16S rRNA che identificano la classe dei Mollicutes, e sequenze di geni *rp122* e *rps3*. Vengono identificate anche le classi di batteri Gram-positivi ad alto contenuto di G+C e a basso contenuto di G+C. Da Martini et al "International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (2007), 57, 2037–2051".



3.2 SINTOMOLOGIA

Come già detto, i GY sono malattie caratterizzate dall'aver sintomatologia uguale, ed è quindi impossibile determinare il fitoplasma responsabile dell'infezione attraverso l'esclusiva analisi dei sintomi.

In primo luogo, i fitoplasmi causano disturbi legati al bilanciamento degli ormoni nelle piante ospiti (**Dermastia, 2019**) e influenzano il normale funzionamento dei regolatori di crescita come riportato da (**Lee & Davis, 1992**).

I sintomi si manifestano su tutte le parti verdi delle piante, a partire dalle foglie, germogli, fino alle inflorescenze e ai grappoli. In *Vitis vinifera*, non ci sono sintomi all'apparato radicale, tuttavia rappresentano uno strumento di contaminazione e proliferazione dell'infezione alle piante sane.

I sintomi, di norma, iniziano a manifestarsi nel periodo estivo, tra luglio e agosto ma, in annate particolarmente calde e siccitose si possono osservare precocemente, già dal mese di giugno.

La FD su vite causa ingiallimento delle foglie, nel caso di varietà a bacca bianca, o arrossamenti, nel caso di bacca nera. I fitoplasmi, essendo localizzati nei tubi cribrosi del floema, provocano il blocco del trasporto dei fotosintetati (**Buoso et al., 2020; Bernardini et al., 2022**), che, con regolazione feedback, provoca inibizione del fotosistema II, andando così a modificare la sintesi di carboidrati, di clorofilla e carotenoidi, come descritto anche in vite da **Bertamini e Nedunchezian, (2001)**. L'alterazione cromatica interessa tutta la lamina fogliare comprese le nervature. Con l'avanzamento della malattia, le foglie si accartocciano verso il basso, assumendo una forma triangolare e via via diventano sempre più fragili e friabili. Spesso la lamina fogliare è ispessita, ricoperta di bollosità e soggetta a filloptosi anticipata.

I tralci non lignificano correttamente, o lo fanno parzialmente, risultano essere elastici, gommosi e incurvati verso il basso. Tendono a formare, alla base del tralcio, delle pustole oleose nere e spaccature longitudinali. Essendo ancora erbacei, non resistono alle basse temperature, necrotizzano e giungono a morte.

Per quanto riguarda gli acini, essi vanno incontro ad una progressiva disidratazione, fino al completo disseccamento del grappolo.

Questo quadro sintomatologico è accompagnato anche da rachitismo, sviluppo stentato, internodi raccorciati, foglie di dimensioni più ridotte del normale, necrosi del floema, fiori sterili e proliferazione dei germogli ascellari assumendo un portamento a cespuglio, detto "scopa delle streghe". Le piante infette da fitoplasmi possono manifestare anche virescenza, cioè quando i fiori sono di colore verde anziché del loro colore caratteristico, privi quindi di pigmenti (**Lee et al., 2000**).

Studi importanti sono stati condotti da **Pracros et al., (2006)** circa il fenomeno della fillodia, causa della quale la pianta accresce foglie anziché fiori.

Naturalmente i sintomi della pianta variano in funzione del fitoplasma, dello stadio d'infezione e dalle condizioni climatiche, che influiscono sul ciclo biologico dell'insetto vettore ma, variano soprattutto in funzione della resistenza della cultivar; infatti, avremmo specie più o meno tolleranti che manifesteranno sintomi di intensità differenti (**Lee et al., 2000**).

Nelle piante ornamentali, la presenza del fitoplasma può essere invece benefica, in quanto permette di ottenere piante molto ramificate, con numerosi germogli laterali, cariche di fiori, ideali per la vendita (**Lee et al., 1997**).

I danni economici causati sono assai elevati, non solo perché ho perdite di produzione, sia in termini qualitativi sia quantitativi, ma si aggiunge il fatto che i tralci non sono atti a divenire capi a frutto fertili per la produzione dell'anno successivo e la possibilità che nel giro di 2-3 anni la pianta giunga a morte.

Attraverso l'osservazione al microscopio delle foglie di specie infettate da fitoplasmi, tra cui *Vitis vinifera*, *Vicia faba* e *Solanum lycopersicum* è stato possibile individuare variazione nella ultrastruttura delle cellule del floema, che risultavano alterate con pareti ispessite, con cellule collassate e con un accumulo di callosio mentre nei cloroplasti si nota distribuzione del sistema tilacoidale e accumulo di corpi elettron-densi, riferibili ad antociani (**Musetti et al., 2013; Santi et al., 2013; Ahmed et al., 2016; Buoso et al., 2019**).

Come dichiarato da **Santi et al., (2013)** i fotoassimilati non possono essere immagazzinati in altri organi vegetali al di fuori delle foglie ed è per questo che, nelle foglie della vite infettate da BN, si riscontra un accumulo di amido e si presuppone che possa causare il blocco dei tubi cribrosi.

Inoltre, in seguito all'infezione di FD, è stato osservato un ritardo di 10-15 giorni circa nella fioritura e nell'invaiaatura, una diminuzione della fertilità ma soprattutto una diminuzione della clorofilla (causando l'ingiallimento delle foglie) determinando così una crescita ridotta della pianta, rese compromesse (perdite che vanno dal 68 % al 85%) e la conseguente diminuzione del peso del grappolo (circa il 35% in meno) dovuta all'arresto dell'apporto di carboidrati e dalla riduzione fotoassimilare (**Matus et al., 2008; Dermastia et al., 2017**).

Un altro parametro che tende a diminuire è la superficie fogliare che, soprattutto durante la fase dell'invaiaatura tende a diminuire del 60% poiché, in seguito all'infezione, si lascia un carico inferiore di potatura (**Oliveira et al., 2020**).

Per fortuna FD non va a incidere sulla qualità dell'uva, infatti, come dichiarato da **Oliveira et al., (2020)**, non emergono differenze significative tra piante sane e guarite.

Figura 6: grappolo rinsecchito, foto presa dal portale della regione Veneto.



Figura 5: foglie di Pinot bianco con rotolamento e ingiallimento, regione Emilia-Romagna.

Figura 6: foglia di barbera con arrossamenti anche nella nervatura centrale, regione Emilia-Romagna.



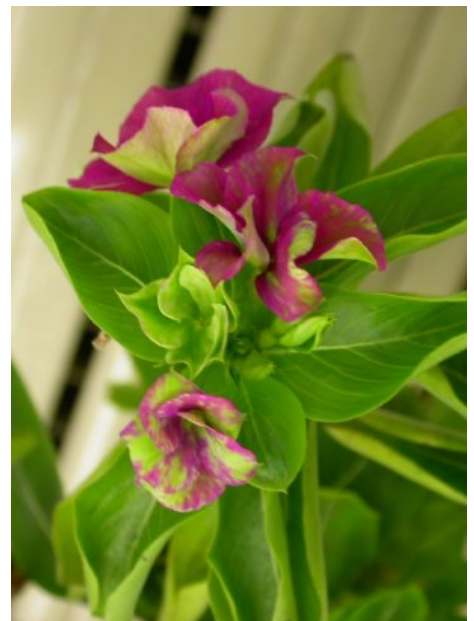
Figura 7: tralcio non lignificato con macchie oleose nere, foto da regione Veneto.



Figura 8: Virescenza su Echineacea, Duduk et al., (2009).



Figura 9: Pervinca con virescenza, Duduk et al., (2009).



3.3 TRASMISSIONE

Come riportano **Belli et al., (2010)**, i fitoplasmi si possono trasmettere attraverso propagazione vegetativa, di piante infette o tramite insetti vettori che appartengono all'ordine degli emitteri omotteri, come le cicaline (famiglia delle *Cicadellidae*), le psille (Sternorinchi).

Come già detto, i fitoplasmi si trovano all'interno dei tubi cribrosi del floema e si muovono all'interno della pianta rendendo l'infezione sistemica (**Christensen et al., 2004**).

La trasmissione ad opera di insetti è il modello di propagazione più diffuso in natura e consta di tre fasi: il vettore acquisisce il fitoplasma prelevandolo dai tubi cribrosi di una pianta infetta attraverso lo stiletto, in seguito inizia il periodo di latenza, della durata di 10-45 giorni in cui l'insetto è infetto ma non è in grado di trasmettere il patogeno fino a quando i fitoplasmi non iniziano a moltiplicarsi all'interno dell'emolinfa, e giungono alle ghiandole salivari; da qui ha origine la fase finale di inoculazione, in cui il l'insetto vettore inculca, nella pianta sana, il fitoplasma, infettandola (**Murrall et al., 1996; Danielli et al., 1996**).

Conti e Alma nel 2002 in un loro trattato hanno affermato che i fitoplasmi rimangono nell'insetto vettore anche dopo la muta, per tutta la loro durata di vita.

In alcuni insetti vettore invece è stata identificata la trasmissione trans-ovarica, che consente la diffusione dei fitoplasmi batteri attraverso le uova. È il caso dello *Scaphoideus titanus* associato ai GY (**Danielli et al., 1996; Alma et al., 1997**) e gli scopazzi del melo trasmessi da *Cacopsylla melanoneura* (**Tedeschi et al., 2006**).

I fitoplasmi possono trasmettersi anche attraverso la propagazione vegetativa di bulbi, gemme, tuberi, talee, rizomi o innesti di piante infette su piante sane. Attraverso l'innesto di materiale infetto, si possono creare nuovi focolai d'infezione in nuove aree viticole, favorendo la diffusione dei fitoplasmi in aree indenni (**Lee et al., 2000; Bertaccini, 2007**).

Come descritto da **Caglayan et al., (2019)** alcune delle colture più importanti al mondo come la patata, aglio, la carota, la cipolla e la banana e tutte le piante ornamentali sono propagate esclusivamente per via vegetativa, aumentando notevolmente le possibilità che i fitoplasmi si diffondano, se il materiale usato per la propagazione non è certificato come sano.

Ecco perché risulta essere fondamentale la scelta del materiale di propagazione, che deve essere sano e certificato.

Sulla base di uno studio condotto da **Cordova et al., (2003)** sull'ingiallimento letale del cocco, esiste la possibilità di trasmissione dei fitoplasmi per seme ma, ad oggi, non è ancora stata confermata per quanto riguarda FD e BN.

Un altro modello di trasmissione, che avviene di rado in natura, è attraverso il cosiddetto "ponte cuscuto" (**Bertaccini & Duduk, 2009**).

Il "ponte cuscuto" viene usato sperimentalmente in laboratorio e si basa sulla possibilità di trasmettere fitoplasmi attraverso *Cuscuta spp.*, pianta parassitaria in grado di creare delle connessioni floematiche, dette "austori" tra una pianta infetta ad una sana, trasmettendo così il fitoplasma. Priva di radici e foglie, *Cuscuta spp.* è completamente dipendente dalle riserve nutritive ed energetiche delle piante ospiti (**Dawson et al., 1994**). Non è fotosinteticamente attiva ed è priva di clorofilla (**Garcia et al., 2014**).

Il "ponte cuscuto" è stato con successo soprattutto per infettare la pervinca (*Catharanthus roseus*), ospite molto usato in patologia per la conservazione dei fitoplasmi (**Bertaccini, 2007; Bertaccini & Duduk, 2009**).

3.4 GLI EFFETTORI

L'effettore denota una proteina secreta da un microbo patogeno o da un insetto presente nella cellula ospite col fine di colonizzare e facilitare la moltiplicazione dell'agente patogeno/insetto. In un contesto invece più ampio gli elicitori sono tossine, fitormoni ed enzimi di degradazione della parete cellulare che alterano le normali funzionalità delle piante (*Hoshi et al., 2009*). La pianta è sprovvista di un sistema immunitario somatico e, per far fronte all'attacco del patogeno, mette in atto due strategie diverse di riconoscimento dello stesso: in un primo livello riconosce i cosiddetti elicitori generali oppure elicitori endogeni; entrambi sono molecole del patogeno ma, si differenziano l'uno dall'altro perché, mentre i secondi derivano dall'azione dannosa del patogeno sulla pianta, i primi sono molecole segnale. In seguito, invece, la pianta riconosce specifiche proteine del patogeno che vengono definite effettori (*Wang et al., 2014*).

L'insieme delle due strategie di difesa, inducono una risposta immunitaria da parte della pianta.

Gli elicitori generali sono abbreviati con l'acronimo inglese PAMP (Pathogen Associated Molecular Pattern=struttura associata al patogeno), sono componenti strutturali della parete cellulare del patogeno, quali flagelli, glucani (nel caso specifico di funghi), chitina, proteine, lipopolissaridi (LPS) ma anche acidi nucleici come DNA e RNA (*Mahla et al., 2013*).

Gli elicitori endogeni sono invece delle molecole segnale prodotte da piante malate e vengono denominati DAMP (Microorganism Associated Molecular Pattern=struttura molecolare associata al danno).

La pianta però non rimane impassibile a subire l'attacco fitopatogeno ma, cerca di difendersi grazie alla presenza di recettori PRR (Pathogen Recognition Receptors) ovvero, dei recettori di riconoscimento delle strutture molecolari del patogeno localizzati nella membrana plasmatica vegetale, riconosce come ligandi PAMP o DAMP e, associandosi fra di loro, inducono l'attivazione di PTI, un sistema di difesa efficace contro un'ampia gamma di patogeni (*Mackey & McFall, 2006; Boller & Felix, 2009*).

La seconda linea di difesa più avanzata della precedente, prevede la produzione di effettori, proteine sintetizzate dal patogeno all'interno dell'ospite che vanno ad alterare la struttura, il metabolismo e la comunicazione tra una o più cellule della pianta. Gli effettori vengono riconosciuti da un recettore R, formano un complesso di proteine di avirulenza (Avr) che, a sua volta, innesca una risposta difensiva più complessa e amplificata della precedente, detta ETI (Effector-Triggered Immunity). Si instaura così una risposta ipersensibile (HR) che rende il patogeno poco virulento e meno pericoloso per la pianta (*Denoux et al., 2009*).

La pianta ha evoluto anche altre potenti strategie per difendersi non solo dai patogeni ma anche da insetti e animali. Si tratta di barriere fisiche come i tricomi che fuggono da sensori per eventuali attacchi (*Taker et al., 2010*), cere cuticolari (*Kosma et al., 2010*) e la parete cellulare (*Perez-Donoso et al., 2010*).

Numerosi sono stati gli studi condotti da *Hoshi et al., (2009)* per cercare di capire il motivo che spinge i fitoplasmi a produrre effettori. Diverse sono le possibili risposte, ma si suppone che servano principalmente per migliorare la fitness del patogeno; infatti, mentre gli effettori nelle piante causano cambiamenti fisiologici e morfologici, i fitoplasmi possono ottenere dei benefici importanti tra cui, una maggiore generazione di tessuti vegetativi giovani così da potersi replicare e per essere più attraenti per l'insetto vettore, responsabile della loro diffusione in natura (*Bertaccini, 2007; Bove et al., 2003*).

Un'altra possibilità è che il fitoplasma guadagni un vantaggio di tipo competitivo, prolungando la fase di crescita vegetativa dell'ospite ritardando la morte della pianta (*Firrao et al., 2007*).

Infine, è stata presa in considerazione anche l'ipotesi che il fitoplasma possa interferire con il processo di produzione dei fitormoni come l'acido jasmonico che ha un ruolo fondamentale nella segnalazione così da alterare la risposta di difesa delle piante (*Hoshi et al., 2009*).

Dal momento che i fitoplasmi sono limitati nelle cellule dei tubi cribrosi del floema delle piante ospiti, così gli effettori vengono rilasciati, su secrezione del fitoplasma, nel citoplasma dell'host per poi entrare in contatto con i vari componenti vegetali.

4. SCAPHOIDEUS TITANUS

FD come già detto, è uno dei GY più dannosi in assoluto che colpisce *Vitis vinifera* coltivata nelle diverse zone vitivinicole Europee, ma non solo (**Angelini et al., 2001**).

Viene associata ad un fitoplasma per il quale è stato proposto il nome 'Ca. P. vitis' (**Schvester et al., 1963; Carraro et al., 1994; Pavan et al., 2012**). Il fitoplasma è trasmesso da una cicalina, *Scaphoideus titanus* (**Bianco et al., 2001**).

FD viene associata ai fitoplasmi appartenenti ai gruppi tassonomici 16SrV-C e 16SrV-D (**Lee et al., 1998**).

In questo capitolo verrà affrontato in maniera dettagliata l'analisi del vettore, le strategie di controllo e monitoraggio che possono essere messe in atto per contrastare la diffusione della malattia.

Un paragrafo verrà dedicato alla descrizione del recovery, fenomeno di remissione spontanea di sintomi le cui basi potrebbero offrire nuove possibilità di controllo.

S. titanus è un insetto che rientra nell'ordine degli emitteri e appartiene alla famiglia delle *Cicadellidae*.

Questa cicalina è floemomiza ampelofaga, vive esclusivamente sulla vite pungendo le foglie in modo da suggerire la linfa elaborata del floema (**Seljak, 1987**).

L'areale di origine è il Nord-America, probabilmente il nord-est (**Papura et al., 2012**). **Granett et al., (2001), Carton et al., (2007)**, sostengono che si sia introdotta in seguito alla diffusione della fillossera; per contrastare questa fitopatia, le zone vitivinicole di spicco del sud della Francia, importarono materiale vivaistico dall'America e, in maniera del tutto imprevedibile, si diffuse anche la FD. È per questo motivo che le prime osservazioni di *S. titanus* provengono proprio dalla Francia, da uova svernanti presenti nelle talee (**Bonfils & Schvester, 1960**), e poi si diffusero nel resto dell'Europa. In Italia venne osservata per la prima volta in provincia di Imperia (**Vidano et al., 1964**) e, attualmente, viene osservata soprattutto nel nord del paese, in particolar modo in Veneto dove la situazione sta destando molte preoccupazioni tra i viticoltori. Ben presto però iniziò a diffondersi a livello mondiale e **Caudwell nel 1957**, suggerì che si diffuse ad opera del vento, spiegandone quindi la presenza anche a centinaia di chilometri dai siti d'infezione.

Viene registrato principalmente su *Vitis vinifera* (**Bonfils & Schvester, 1960**) ma nella sua zona d'origine si osserva anche in *Vitis labrusca* e *Vitis riparia* ma non costituisce un pericolo economico (**Maixner et al., 1993; Chucho & Thiéry, 2014**).

È un insetto olifago perché compie l'intero ciclo vitale (dall'uovo all'uovo) nella vite e si nutre di diverse specie del genere *Vitis*. Tuttavia, è stato osservato anche in *Prunus persica* (**Barnett, 1976; Schvester et al., 1962**), *Vicia faba* (**Caudwell et al., 1970**), *Salix sp.* (**Barnett, 1976**) e molte specie appartenenti alla famiglia delle *Rosaceae*, *Amaranthaceae*, *Asteraceae* e così via.

4.1 CICLO E FASI DI SVILUPPO

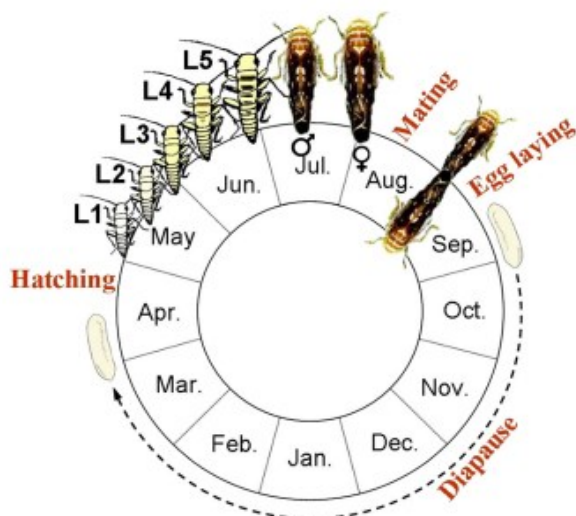


Figura 8: ciclo vitale di *S. titanus*, foto presa da "Biology and ecology of *Flavescence dorée* vector *S. titanus*" da Chuche & Denis, (2014).

S. titanus è una specie monovoltina, dunque compie una sola generazione l'anno e sverna come uovo.

Il ciclo avviene totalmente nella vite e inizia con la deposizione delle uova verso la fine dell'estate, da agosto ad ottobre all'interno del ritidoma dei tralci di uno o più anni e possono essere deposte individualmente o in gruppi (*Schvester et al., 1962b; Vidano, 1964; Bagnoli & Gargani, 2011*).

Le femmine possono produrre dalle 10 alle 20 uova (*Vidano, 1964; Cravedi et al., 1993; Bosio & Rossi, 2001; Linder & Jermini, 2007; Eriksson et al., 2012*) e dipende non solo dalla fertilità della madre, ma anche da fattori esterni quali la fecondità delle uova e dalle condizioni della corteccia in cui si trovano e quelle ambientali.

Le uova vengono covate per tutto l'inverno, e il periodo della diapausa dura circa 6-8 mesi fino ad arrivare al

momento della schiusa.

La schiusa avviene scalarmente e varia molto da zona a zona a seconda dell'altitudine, latitudine e dell'andamento climatico nel corso dell'anno. Generalmente nei nostri territori inizia verso metà maggio e può protrarsi anche per più di 15 giorni a seconda dell'andamento delle temperature.

Chuche e Thiéry, (2009) osservarono che il fenomeno della schiusa si verifica più velocemente con le basse temperature ed hanno bisogno di inverni molto freddi durante la diapausa per poter poi schiudere nel migliore dei modi.

Prima di diventare adulti compiono cinque stadi giovanili in cui due sono neanidi e i successivi tre stadi si trovano come ninfa e in circa 6-7 settimane divengono adulti, di solito tra giugno e luglio.

La mortalità nei primi stadi è oltre il 50% e poi va a calare negli stadi successivi, come descritto da **Bernard & Du Fretay, (1988)**.

Gli insetti di prima e seconda età si dicono neanidi sono di colore biancastro quasi traslucido, sprovviste di abbozzi alari e con delle caratteristiche macchiette nere sulla parte addominale posteriore del corpo che permettono di distinguerle dalle neanidi di altre cicaline. Sono localizzate principalmente nella pagina inferiore delle foglie basali della pianta.

Le ninfe si trovano dal terzo al quinto stadio di età e sono di colore bianco, dotate di abbozzi alari e caratterizzate da macchioline brunastre molto evidenti sul corpo. Rimangono anch'esse nelle foglie della pianta dove schiudono (**Maixner et al., 1993**).

Le forme giovani si nutrono principalmente dalle nervature della pagina inferiore o dai pollini (**Bernard & Du Fretay, 1988; Posenato et al., 2001**) e vivono nella parte basale della pianta poiché richiedono un ambiente umido ed ombreggiato (**Bernard & Du Fretay, 1988**).

Infine, lo stadio adulto viene raggiunto prima dai maschi, i quali presentano una vitalità più breve rispetto alle femmine (**Bressan et al., 2005**). Hanno il capo dalla forma triangolare, venature scure sulle ali anteriori e solitamente sono di colore marroncino-brunastro.

Per riconoscere *S. titanus* dalle altre cicaline (es: *Empoasca vitis*), oltre alle caratteristiche macchioline nere e simmetriche poste sull'ultimo segmento addominale e la forma del corpo incurvata verso l'alto, detta "a barchetta", è possibile identificarlo in campo grazie al fatto che, se toccati, saltano, al contrario delle altre cicaline che invece, per spostarsi, camminano semplicemente sulla superficie fogliare (**Posenato et al., 2001**).

S. titanus è un insetto notturno o crepuscolare e la sua attività di volo dipende dal fotoperiodo e dalle temperature, infatti, aumenta con l'abbassarsi delle temperature, tra il tardo pomeriggio e la mattina presto (**Lessio & Alma, 2004**). **Mazzoni et al., (2009)** hanno registrato che il picco del volo avviene tra le 18:00 e le 23:30.



Figura 9: Uovo di *S. titanus*, foto di A. Lucchi.



Figura 10: Neanide di *S. titanus*. Caratteristica distintiva sono i due puntini neri sull'ultimo segmento dell'addome, foto di G. Bosio.



Figura 11: Adulto di *S. titanus*, foto di A. Alma.

L'accoppiamento è una fase molto delicata del ciclo e si basa sull'instaurare un duetto di accoppiamento tra maschio e femmina dove i primi, attraverso un canto, cercano e chiamano le seconde. Se non ricevono una risposta possono anche spostarsi, volando su altre foglie e continuare il canto (**Mazzoni et al., 2009°**).

I maschi emettono segnali entro le 24 ore dalla nascita mentre le femmine per diventare adulte impiegano più tempo, circa 6 giorni (**Mazzoni et al., 2009b**).

Nel momento in cui il maschio riceve risposta, verrà istituito il duetto con specifici segnali vibrazionali che portano poi all'accoppiamento.

L'accoppiamento dura dai 40 ai 70 minuti e, mentre i maschi possono accoppiarsi più volte, le femmine si accoppiano una sola volta (**Lucchi et al., 2004; Mazzoni et al., 2009c**).

4.2 IL CONTROLLO

Il fitoplasma della FD è stato dichiarato dall'Unione Europea "parassita da quarantena" ed è nella lista A2 della EPPO e il 31 maggio 2000, il Ministero dell'agricoltura italiana ha emanato il decreto "Misure per la lotta obbligatoria contro la Flavescenza dorata della vite" (D.M. n. 32442, 31/05/2000) stabilendo le misure obbligatorie per il contenimento dell'epidemia e il controllo del suo vettore in tutto il paese. Questo decreto si basa sulla suddivisione della nazione in diverse zone, a seconda della situazione epidemiologica:

- zona focolaio: è stata accertata ufficialmente la presenza della malattia e si dovrà procedere con l'estirpo di ogni pianta malata e di qualsiasi altra pianta che manifesta sintomi sospetti. È obbligatorio il trattamento insetticida, almeno due volte l'anno.
- Zona di insediamento: è stata dichiarata la presenza di FD e del suo vettore ma la situazione è sotto controllo e non è necessario procedere con l'eradicazione. Sono però obbligatorie le misure di contenimento del vettore.
- Zone indenni: non è stata riscontrata la presenza della malattia e del vettore, ma resta obbligatorio prevenire il suo sviluppo.

Non esiste il controllo diretto del patogeno ma è obbligatorio trattare il vigneto con insetticidi per controllare la diffusione della malattia attraverso il vettore.

Uno dei metodi più utilizzati e soprattutto più efficace per il controllo dello *S. titanus* è l'applicazione di insetticidi; solitamente si effettuano uno o due trattamenti (**Belli et al., 2010**), il primo si effettua dopo la fine della fioritura, verso fine giugno per evitare la morte delle api mellifere ed è mirato contro le forme giovanili mentre il secondo viene applicato, di norma, un mese dopo il primo ed è rivolto a ninfe adulte agli adulti e forme giovanili tardive (**Bosco & Mori, 2013**). È consigliato anche un terzo trattamento a fine agosto inizio settembre nel momento in cui ci sia la presenza di un elevato numero di adulti infetti e per diminuire la presenza delle femmine deponenti (**Alma, 2006**).

Solitamente i prodotti più utilizzati per la somministrazione sono:

- Il *Buprofezin* un insetticida regolatore di crescita ad azione chitino-inibitore che blocca la crescita dei diversi insetti nella fase iniziale, inibendo la formazione della chitina. Revocato nel 2009.
- il *clorpirifos-metile* cioè un insetticida larvicida ad ampio spettro d'azione in grado di abbattere le larve presenti all'interno delle foglie. Agisce per contatto. Ottimo anche per il controllo della cimice asiatica (*Halyomorpha halys*), revocato però nel 2020.
- il *Thiamethoxam* un insetticida appartenente alla famiglia dei neonicotinoidi, molto efficace contro gli insetti dotati di apparato boccale pungente-succhiante e masticatore e ha un limitato impatto sugli artropodi utili. Agisce per ingestione e/o contatto. È un antagonista dell'acetilcolina e va a colpire i recettori nicotinici bloccando gli impulsi nervosi. Revocato anch'esso nel 2020.

I neonicotinoidi sono tra gli insetticidi più attivi nel controllo dei vettori (**Saracco et al., 2008**) ma nel corso del 2020 la maggior parte è stata revocata perché causa danni agli insetti impollinatori e vennero sostituiti da prodotti a base di piretro.

Attualmente, secondo le linee tecniche di difesa integrata 2022, le sostanze attive approvate dalla regione Veneto sono prodotti a base di piretrine (sostanze attive più efficaci nella difesa biologica), olio essenziale di arancio dolce e Sali potassici di acidi grassi mentre per la difesa convenzionale è possibile utilizzare diversi prodotti insetticidi come *Acetamiprid*, *Deltametrina*, *Sulfoxaflor*, *Etefenprox*, *Acrinatrina* e *Tau-fluvalinate* (questi ultimi tre sono prodotti piretroidi) e altri.

Per evitare danni agli insetti pronubi e agli altri impollinatori è fondamentale andare a sfalciare il cotico erboso, rimuovendo così i fiori come descritto da **Mori et al., (2014)**. Per contrastare poi la diffusione della malattia ci sono degli altri accorgimenti importanti da mettere in atto prima dei trattamenti insetticidi, innanzitutto la corretta profilassi del materiale di propagazione che deve essere sano, certificato e privo di uova svernanti (**Barba et al., 2005**). I vivaisti sono obbligati a garantire la sicurezza del materiale immergendolo in acqua calda a 50°C per 45 minuti circa (**Caudwell et al., 1990; 1997; Linder et al., 2010**). Così facendo vengono eliminate tutte le uova e i microrganismi evitando che la vite muoia.

Ci sono poi altre tecniche agronomiche che possono essere messe in atto per ridurre la popolazione vettoriale che sono la completa eliminazione o sminuzzamento dei residui di potatura, l'eliminazione dei succhioni che crescono in verticale così da evitare la crescita delle neanidi in questi organi (**Cara et al., 2013**). Infine, è obbligatoria l'eliminazione di tutte le piante sintomatiche che sono portatrici del fitoplasma, l'estirpo dei vigneti abbandonati e delle viti inselvatichite perché anch'essi sono causa di infezione e trasmissione del patogeno (**Lessio & Alma, 2006a; Lessio et al., 2007**).

Il controllo dei parassiti si può effettuare anche mediante l'uso di sostanze naturali oppure ferormoni, kairomoni, suoni e vibrazioni al fine di andare ad ostacolare l'alimentazione e l'accoppiamento (**Cokl & Millar, 2009; Agarwal & Sunil, 2020; Nieri et al., 2021**).

I ferormoni sessuali sono ampiamente utilizzati per controllare diverse specie in campo e, oltre all'accoppiamento, sono in grado di interferire anche sull'ovideposizione e sull'attività di volo (**Gibbs et al., 2010; Harari et al., 2015**).

L'uso delle vibrazioni invece è ancora molto contenuto, ma è risultato efficiente per *S. titanus*. Vibrational Mating Disruption (VMD) è un metodo innovativo basato sulla trasmissione di un segnale vibrazionale che ostacola la comunicazione tra insetti, quindi l'accoppiamento e di conseguenza il diffondersi della FD in campo (**Mazzoni et al., 2019; Zaffaroni et al., 2022**).

Attraverso uno studio condotto da **Maixner et al., nel 1993**, è stato possibile osservare un numero nettamente superiore di individui di *S. titanus* su *Vitis Vinifera* in Francia piuttosto che in America; questo ha suggerito che nella zona di origine sono presenti i nemici naturali nativi, ma che essi non sono stati introdotti con il vettore. Nel nord America sono state individuate alcune specie parassitoidi appartenenti agli Imenotteri *Drynidae* e *Mymaridea* e Ditteri *Pipunculidae* e in particolar modo con l'insetto predatorio *Malacocoris chlorizans* (*Miridae*) (**Barnett, 1976; Malausa et al., 2003**).

Sono state fatte sperimentazioni in campo con predatori e parassitoidi contro lo *S. titanus* ma non hanno portato a risultati interessanti, ed è per tale motivo che si ricorre a strategie di controllo alternative più efficaci (**Malausa & Sentenza, 2011**).

Per limitare i danni e per tenere controllato l'andamento della malattia, è fondamentale la tempestività nel monitorare l'andamento della situazione ecco perché, come dichiarato da **Cruz et al., (2019)**, negli ultimi anni si stanno mettendo a punto strumenti automatici da utilizzare direttamente in campo (**Zhou et al., 2014; Abdulridha et al., 2018; Ampatzidis et al., 2017**).

Il nuovo sistema ideato si chiama Resnet-50 è stato testato su una cultivar a bacca rossa (Sangiovese) (**Szegedy et al., 2015**). Si basa su algoritmi alimentati da immagini digitali, grazie ai quali, attraverso le diverse colorazioni che assume la foglia, è possibile riconoscere e diagnosticare la malattia.

È un test molto semplice che può essere effettuato anche da persone non molto esperte poiché basta semplicemente inviare l'immagine della foglia al sistema e sarà poi lui a determinare la diagnosi. È un sistema molto preciso con una specificità del 99,40% ed è in grado di rilevare non solo di rilevare le malattie fitoplasmatiche ma è anche di riconoscere la peronospora, il marciume nero, l'oidio e il mal dell'esca. A causa dei sintomi praticamente indistinguibili tra FD e BN, è sempre più basilare avere a disposizione strumenti automatici in grado di aiutare nel riconoscimento degli agenti patogeni.

4.3 IL FENOMENO DEL RECOVERY

È stato definito come un fenomeno che comporta la remissione spontanea dei sintomi di malattia nelle piante che in precedenza li manifestavano (**Musetti et al., 2007; 2010**) mentre, secondo **Maixner et al., (2011)**, viene considerato come un periodo asintomatico minimo di due-tre anni dopo l'espressione dei sintomi di malattia.

È un evento naturale e spontaneo, osservato per la prima volta in Francia (**Caudwell, 1961**) e poi in Italia (**Belli e al., 1978**), in seguito anche per **BN** (**Osler et al., 1993**).

È stato segnalato in diverse varietà del genere *Vitis* ma anche in melo (*Malus domestica*) e albicocco (*Prunus armeniaca*).

Numerosi sono i ricercatori che hanno collaborato allo studio delle fasi biochimiche di tale processo; infatti, la difficoltà sta nella relazione complessa tra ospiti, fitoplasma e vettore (**Musetti et al., 2013**) che rende il recovery un fenomeno complesso e non ancora pienamente compreso.

Studi recenti hanno evidenziato che alla base del recovery ci sono dei cambiamenti biochimici e molecolari a livello del floema.

Nelle piante guarite infatti sono state rilevate tracce importanti di H₂O₂, perossido di idrogeno, specie reattiva dell'ossigeno (ROS) con ruolo di antimicrobico (**Musetti et al., 2004; 2005; 2007**) nei confronti di due enzimi "scavenging" quali catalasi e ascorbato perossidasi. Questi ROS svolgono un ruolo centrale molto importante contro gli agenti patogeni, perché hanno azione antimicrobica diretta e inducono una risposta ipersensibile (HR) (**Lamb & Dixon, 1997**).

Le piante "recovered" da FD manifestano, oltre ad un incremento delle specie reattive all'ossigeno ROS a livello, anche l'aumento delle proteine correlate alla patogenesi (PR) (**Musetti et al., 2007**).

Le osservazioni del recovery sono state effettuate su diverse varietà di *Vitis vinifera* presenti in aerali differenti e si è visto che questo fenomeno varia a seconda del genotipo dell'ospite e in funzione delle condizioni ambientali.

Osler et al., (2003) e Morone et al., (2007) attraverso studi condotti su piante "recovered" delle cultivar 'Glera', Chardonnay e Barbera, hanno potuto osservare che non sono presenti fitoplasmici per cui, le piante guarite, non sono fonte di inoculo di gialli di vite.

Tuttavia, nulla impedisce alle piante "recovered" di poter essere nuovamente infettate, ma in misura minore, come dimostrato da **Osler et al., (2000)** e ciò fa dunque presupporre che venga innescata una resistenza (seppure lieve) della pianta alla malattia.

Più accentuati saranno i sintomi di malattia, più la pianta cercherà strategie difensive efficaci per poter guarire diventando così resistente (**Morone et al., 2007; Musetti et al., 2007; Maggi, 2017**).

Questa remissione spontanea dei sintomi è molto interessante poiché, se si potesse indurre, permetterebbe di mettere a punto un nuovo sistema di controllo delle malattie associate a fitoplasmici, limitando così danni e perdite economiche.

4.4 IL MONITORAGGIO

Esistono diverse modalità per rilevare la presenza della cicalina di *S. titanus* in vigneto:

- 1) L'uso di trappole cromotropiche adesive per gli stadi adulti
- 2) La conta degli stadi giovanili prima dal trattamento insetticida



Figura 12: trappola cromotropica gialla, foto di Pavan.

È il metodo più utilizzato, si basa sulle trappole cromotropiche su fogli di plastica di colore giallo, dotate di colla (il giallo è il colore più attraente per ninfe e adulti in campo) (Chuche et al., 2011a; Mazzoni et al., 2011). Sono di dimensioni 25*30 e vanno posizionate nel vigneto (5-6 trappole/ha) verso fine giugno, a 1-2 m di altezza dal suolo, sono da sostituire ogni 10-15 giorni quando hanno perso la loro capacità collante (Pavan et al., 1987).

La lettura delle trappole si effettua una volta a settimana e i dati devono essere riportati in una scheda detta "Scheda per la registrazione del numero di adulti di *Scaphoideus titanus* catturati con le trappole cromotropiche" che deve essere tenuta in azienda per eventuali controlli.

Infine, le trappole vanno rimosse quando la vegetazione è asciutta (non dopo irrigazione o pioggia), devono essere conservate con pellicola per procedere poi al riconoscimento e alla conta degli scafoidei adulti da parte di tecnici esperti.

L'efficacia delle trappole dipende dalla temperatura, vento e piovosità, ma l'affidabilità varia in funzione dalla densità della popolazione vettoriale e dal sesso dell'insetto; infatti, si è notato che vengono catturati più maschi che femmine (Bosco et al., 1997; Lessio et al., 2009b) e a seconda della stagione vengono catturati più maschi all'inizio e più femmine verso fine stagione (Lessio et al., 2009b).

Per il conteggio degli stadi giovanili di *S. titanus* occorre fare due campionamenti, il primo a inizio giugno e il secondo si effettua dopo il trattamento insetticida. La conta si effettua osservando, nelle prime ore del mattino quando l'insetto è meno mobile, la pagina inferiore cinque foglie basali (in prossimità dei siti di ovideposizione) per pianta. Il campionamento deve essere effettuato su tutto il vigneto secondo uno schema prestabilito (Pavan et al., 2005). Si contano gli individui presenti allo stadio giovanile, sia ninfe sia neanidi (Lessio & Alma, 2006).

I dati raccolti verranno inseriti sulla "Scheda per la registrazione del rilievo sequenziale degli stadi giovanili di *Scaphoideus titanus*" che deve essere tenuta a disposizione per eventuali controlli. Se si avrà una densità di popolazione inferiore a 0.2 allora avrò uno stato ottimale di contenimento del vettore.

Questo metodo consente di fare una stima, non di ottenere un dato numerico poiché non è nota la sua affidabilità. Basti pensare che in seguito a pioggia, Bernard et al., (1988) non hanno riscontrato la presenza di ninfe su foglie per 3 giorni. Motivo per cui l'efficienza varia in funzione dell'andamento meteorologico, della stagione, della posizione e della gestione del vigneto (inerbimenti, interventi fitosanitari, spollonature). Il monitoraggio permette innanzitutto di rilevare la presenza del patogeno in una data area, stabilire lo stadio di sviluppo così da ottimizzare l'applicazione del prodotto insetticida.

5. IL LEGNO NERO

Da ultimo, verrà trattato il BN, altro giallume che viene spesso confuso con la FD a causa dei sintomi indistinguibili, ma con eziologia ed epidemiologia completamente differente come riportato da **Caudwell et al., (1971b)**.

BN prende il nome dai tralci non lignificati della vite che, in inverno, esposti alle basse temperature, tendono a necrotizzare formando chiazze nere (**Belli et al., 2001**).

Osservata per la prima volta in Francia (**Caudwell, 1961**) è ancora oggi presente in molti areali vitivinicoli europei come Germania (**Maixner et al., 1995**), Spagna (**Laviña et al., 2006**), Ungheria (**Palermo et al., 2004**), l'ex Jugoslavia (**Petrovic et al., 2003; Šeruga et al., 2003**) e anche in Ucraina (**Milkus et al., 2005**) fino al Medio Oriente.

BN viene associato al fitoplasma appartenente al genere '*Ca. P. solani*' ed è trasmesso dal vettore *Hyaalsthes obsoletus* (**Quaglino et al., 2013**).

La fitoplasma venne identificata grazie alle nuove tecnologie diagnostiche, in modo particolare PCR e RFLP, grazie alle quali è stato possibile associare il fitoplasma al gruppo 16SrXII-A, detto *Stolbur* (**Bianco et al., 1993; Daire et al., 1993; Bertaccini et al., 1995**).

Recenti studi molecolari condotti da **Conigliaro et al., (2020)** hanno dimostrato che nei vigneti europei '*Ca. P. Solani*' è associata a due diversi geni Tuf. I due Tuf vengono attribuiti a due cicli epidemiologici ben precisi:

- Tuf A: riguarda l'infezione di '*Ca. P. Solani*' con *Urtica dioica*
- Tuf B: '*Ca. P. Solani*' e la sua infezione con *Convolvulus arvensis*

Un altro marcatore molecolare che può dare informazioni interessanti circa l'epidemiologia di '*Ca. P. Solani*' e il suo rapporto fitoplasma-vettore-pianta è il gene *vmp1* che codifica un fitoplasma *stolbur* transmembrana, ma ancora oggi è oggetto di studio (**Cimerman et al., 2009**)

Il vettore del fitoplasma che causa il legno nero è *H. obsoletus* Signoret, un emittente omottero e della famiglia *Cixiidae*. È una cicalina polifaga che acquisisce il fitoplasma da piante erbacee, quali convulvolo (*Convolvulus arvensis* L.) e ortica (*Urtica dioica* L.), principali ospiti di ninfe e adulti del vettore, ma non della vite (**Langer & Maixner., 2004; Maixner, 2010; Holzinger et al., 2003**). Il fitoplasma si sviluppa nelle radici e viene poi prelevato e trasmesso dagli stadi giovanili della cicalina (**Maixner, 2007; Cargnus et al., 2012**).

La presenza di *Hyaalsthes* su *Vitis vinifera* (**Maixner, 1994 ; Sforza et al., 1998**), per cui la vite non è fonte di inculo e, dunque, per limitare la diffusione della malattia, non è necessario rimuovere le piante infette ma basta limitare la presenza di piante ospiti del fitoplasma, così da sfavorire la colonizzazione del vettore (**Pavan et al., 2012b**).

Il suo ciclo biologico a livello del terreno, ma è molto variabile a seconda dei diversi paesi in cui si trova. Generalmente, in Europa tende a compiere una sola generazione l'anno e sverna come ninfa al terzo stadio di età (**Alma et al., 1988**). In Medio Oriente invece, la cicalina compie due generazioni l'anno e gli adulti si verificano in primavera- autunno, con temperature più lievi (**Sharon et al., 2005**).

Le uova vengono deposte nel terreno, in prossimità delle radici delle loro piante ospiti. Gli adulti compaiono tra la fine di giugno e l'inizio di luglio e rimangono in attività fino alla metà di settembre circa; inizieranno così a suggerire il fitoplasma dal floema e l'incubazione dura circa sette settimane al termine della quale sono in grado di infettare piante sane (**Sforza et al., 1999; Lessio et al., 2007**). Le ninfe del secondo e terzo stadio si spostano verso gli strati più profondi del terreno, ibernano per poi riprendere la loro attività in primavera (**Cargnus et al., 2012; Langer et al., 2003**).

La presenza di *H. obsoletus* è influenzata non solo dalla presenza e dalla distribuzione delle piante ospiti, ma anche dalla luce, terreni permeabili e vegetazione rada e fitta che favoriscono la presenza del vettore (**Maixner & Mori, 2013**).

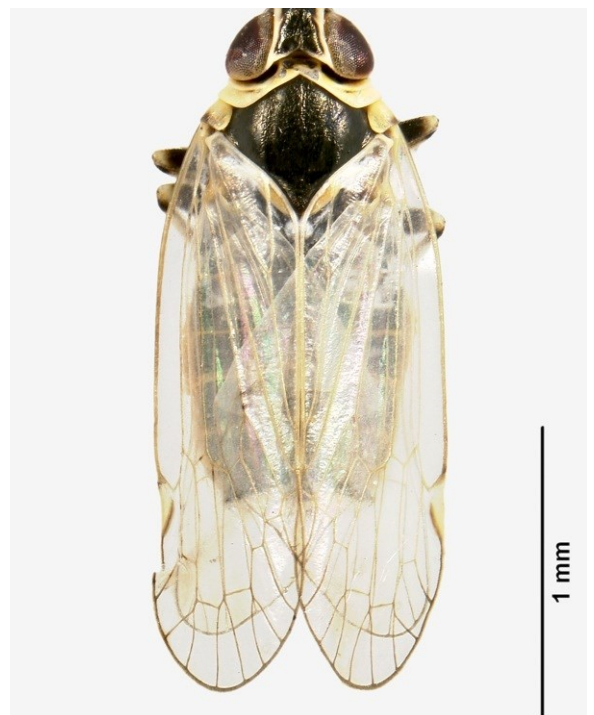
H. obsoletus presenta le seguenti caratteristiche (**Alma, 2008**):

- neanide di I età lunga 0.50mm circa, dal corpo tozzo di colore bianco. Gli occhi bianchicci, antenne corte ed è caratterizzata dalla presenza di raggi di cera bianca sulla parte terminale dell'addome, più corti del corpo.
- ninfa di V età lunga 3,20-3,40 mm. Corpo tozzo, colore bianco tendente al crema, abbozzi alari e zampe dello stesso colore del corpo. Occhi rossi, antenne filiformi, incolori. Anche in questo stadio la parte terminale dell'addome è ornata da raggi di cera bianca lunghi circa la metà del corpo
- adulto lungo 4 mm nel maschio e per la femmina circa 5 mm. Corpo di colore grigio-nero. Capo di colore nero lucente, piuttosto piccolo. Antenne filiformi, primo articolo corto, secondo articolo largo e globulare. Occhi rossi e globulosi. Le zampe privi di sperone mobile e le ali sono grandi, membranose e trasparenti spesso con venature nere-brunastre. La femmina è caratterizzata dalla presenza dell'ovopositore sporgente dall'addome e avvolto in una massa cerosa.



Figura 13: Adulto di *Hyalesthes obsoletus*, foto da agraria.org.

Figura 14: Cicalina del legno nero - *Hyalesthes obsoletus*, foto da agraria.org.



5.1 IL MONITORAGGIO

Gli stadi giovanili di *H. obsoletus* possono essere monitorati in primavera con controlli alle radici delle piante, mentre gli adulti, a partire da giugno, possono essere monitorati mediante l'uso di aspiratori D-vac oppure trappole cromotropiche adesive posizionate a livello del suolo (**Bressan et al., 2007**).

5.2 CONTROLLO

Come dichiarato da **Mori et al., (2008)**, i trattamenti insetticidi contro *H. obsoletus* risultano essere inefficienti contro la diffusione della malattia per tanto uno dei metodi di controllo è dato dalla possibilità di eliminazione le piante ospiti del fitoplasma così da uccidere le ninfe sulle radici delle piante ospiti-alternativi prima che possano diventare adulti e infettare l'intero vigneto.

Alla luce degli studi condotti dai ricercatori **Sforza et al., (1998)** e **Bacchiavini et al., (2008)**, è emerso che la corretta gestione agronomica dei vigneti è essenziale per il contenimento della malattia. È preferibile, all'inerbimento naturale e spontaneo, optare per la semina di monocotiledoni così da avere piante delle quali l'insetto vettore non si nutre e soprattutto al fine di non favorire la presenza di piante erbacee ospiti del fitoplasma e del vettore (**Maixner et al., 2001**).

All'interno dei vigneti il convolvolo e l'ortica sono molto diffusi, soprattutto lungo fossi o scoline e, per limitare la loro presenza, è fondamentale eseguire lavorazioni e sfalci frequenti dove possibile, altrimenti l'alternativa è l'uso di diserbanti o erbicidi da distribuire in primavera, sei settimane prima della comparsa degli adulti, quando le ninfe non sono ancora in grado di compiere lunghi tragitti (**Mori et al., 2011; 2012; 2014°**). È consigliabile seminare piante monocotiledoni di cui l'insetto vettore non si nutre.

È meglio evitare trattamenti chimici e agronomici durante il periodo del volo poiché aumenterebbe il rischio di dispersione dei vettori nei vigneti adiacenti (**Mori et al., 2012**).

Inoltre, **Picciau et al., (2010)** afferma che per il contenimento del giallume, la spollonatura del cordone verticale delle viti e la pulizia del sottofilare (diserbato meccanicamente o chimicamente), sono pratiche utili per ridurre la colonizzazione di *H. obsoletus*.

Infine, attraverso studi e prove ancora in corso, ci sarebbe la possibilità di controllare il vettore attraverso metodi basati su batteri simbiotici (**Alma et al., 2010; Gonella et al., 2011**) oppure l'uso di chemiotropici come kairomoni e strategie di cattura massale a base di repellenti (allormoni) (**Riolo et al., 2012**).

Un altro metodo molto più costoso e ingombrante, sono le reti antinsetto per prevenire il volo dei vettori adulti nei vigneti (**M. Maixner, non pubblicato**) che potrebbero però essere una valida soluzione qualora non fosse possibile applicare altre misure di prevenzione.

Negli ultimi anni si stanno proponendo strategie innovative per lo sviluppo di un sistema di lotta basato sull'uso dei simbiotici, detto "controllo simbiotico" (CS). Analisi di fluorescenza e tecniche di ecologia microbica hanno rilevato la presenza di diverse specie batteriche nell'intestino dei vettori che potrebbero essere in grado di contrastare i fitoplasmi e la loro trasmissibilità (**Gonella et al., 2011**).

6. CONCLUSIONI

La Flavescenza dorata (FD) viene riconosciuta dall'Unione Europea come una malattia da quarantena per cui sono state stabilite misure di controllo obbligatorie.

Nonostante i numerosi studi tutt'oggi in corso, non esiste ancora un metodo curativo per contrastare il patogeno, ma si possono attuare strategie di lotta preventive attraverso l'uso di materiale sano e certificato, ed eventualmente, effettuando trattamenti di termoterapia per risanare il materiale di propagazione infetto. Visti gli ingenti danni produttivi ed economici che la malattia può causare, il monitoraggio del vettore è fondamentale e deve essere eseguito in maniera tempestiva per bloccare la diffusione dei fitoplasmi poiché *S. titanus* diventa pericoloso dal terzo al quinto stadio di età, quando inizia a volare.

La misura più efficace di eliminazione del patogeno è l'estirpo delle viti sintomatiche, ma ciò oltre a costituire un costo per l'agricoltore, rappresenta anche una perdita economica in termini produttivi e quantitativi.

Negli ultimi anni, tra il 2018 e il 2022 in modo particolare, abbiamo assistito ad una grave recrudescenza di FD nei territori del Veneto, soprattutto nelle aree comprese tra Verona e Vicenza e tutta la provincia di Treviso, colpendo zone viticole di spicco, tra cui la Soave DOC e Conegliano-Valdobbiadene Prosecco superiore DOCG.

Generalmente, in annate non siccitose, i sintomi dell'infezione si manifestano a partire da luglio fino a ottobre circa, con la caduta delle foglie, ma le manifestazioni precoci sono sempre più frequenti.

La causa di questo repentino aumento può essere ricondotta al cambiamento climatico, caratterizzato non solo dall'aumento delle temperature diurne e notturne ma anche da una drammatica e netta diminuzione delle precipitazioni che potrebbero aver influito sulla relazione pianta-patogeno-vettore (***Informatore agrario, 2022***).

Il 12 luglio 2022 la regione Veneto ha emanato la nuova delibera "Misure per la lotta obbligatoria della Flavescenza dorata della vite" Disposizioni attuative dell'art. 55 del Decreto Legislativo n. 19 del 2 febbraio 2021 dichiara che il Servizio Fitosanitario Regionale istituisce ulteriori misure fitosanitarie per eradicare la malattia e limitare la diffusione del patogeno nelle zone focolaio, per le zone di "insediamento" misure di contenimento e strategie di controllo preventive per la diffusione del patogeno nelle zone indenni.

La delibera prevede poi l'obbligo di effettuare almeno due trattamenti insetticidi (un terzo trattamento dove necessario) contro *S. titanus* impiegando i prodotti fitosanitari specifici registrati contro la cicalina in questione, nel rispetto però delle restrizioni attuate al fine di proteggere gli impollinanti.

Inoltre, la delibera dichiara che l'agricoltore deve provvedere all'estirpo di piante sintomatiche, deve compilare un registro dei trattamenti effettuati e che, in caso di controlli da parte dell'organo di controllo AVEPA (Agenzia veneta per i pagamenti), deve poter esibire. Nel caso in cui vengano riscontrate violazioni, AVEPA può applicare sanzioni pecuniarie da euro 1000 a 6000 come previsto dall'art. 55, comma 15, del D.Lgs. 19/2021.

Infine, la Regione Veneto, vista l'emergenza, si impegna ad attivare organi di controllo periodici, pronti a redigere bollettini informativi sulla base di notizie tecnico-scientifico per contrastare la diffusione della patologia.

Sono sicuramente necessari ulteriori studi e ricerche più approfondite per poter comprendere meglio la complessa natura dei fitoplasmi, ma soprattutto è diventato fondamentale importanza cercare dei metodi alternativi per combattere le malattie ad essi associate in modo rapido ed efficace, prima che venga raggiunta la soglia oltre la quale sia impossibile gestirle.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Abdulridha, J., Ampatzidis, Y., Ehsani, R., & De Castro, A. I., (2018). Evaluating the performance of spectral features and multivariate analysis tools to detect laurel wilt disease and nutritional deficiency in avocado. *Computers and electronics in agriculture*, 155, 203-211.
2. Agarwal, A., Cunningham, J. P., Valenzuela, I., & Blacket, M. J., (2020). A diagnostic LAMP assay for the destructive grapevine insect pest, phylloxera (*Daktulosphaira vitifoliae*). *Scientific reports*, 10(1), 1-10.
3. Ahmed, E.A., Shalaby, O.Y., Dwidar, E.F., Mokbel, S.A., El-Attar, A.K., (2016). Ultrastructural changes in tomato plant induced by phytoplasma infection and attempts for its elimination using tissue culture techniques. *Egypt. J. Virol.* 13 (1), 34–51.
4. Ahrens, U. and Seemüller, E., (1992). Detection of DNA of plant pathogenic mycoplasma like organisms by a polymerase chain reaction that amplifies a sequence of the 16S rRNA gene. *Phytopathology* 82, 828- 832.
5. Albanese G., Davis R.E., Granata G., Dally E.L., Santuccio T., Tessitori M., (1996). Analisi del DNA per individuazione e l'identificazione di fitoplasmici in piante di vite affette da giallumi in Sicilia. *Petria* 6: 65-
6. Alma A., (2014). *Scaphoideus titanus* nell'agroecosistema vigneto. In: Incontro "Flavescenza dorata 2000-2014.
7. 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.
8. Ampatzidis, Y., De Bellis, L., & Luvisi, A., (2017). iPathology: robotic applications and management of plants and plant diseases. *Sustainability*, 9(6), 1010.
9. Angelini, E., Clair, D., Borgo, M., Bertaccini, A., & Boudon-Padieu, E., (2001). Flavescenza dorée in France and Italy-Occurrence of closely related phytoplasma isolates and their near relationships to Palatinate grapevine yellows and an alder yellows phytoplasma. *Vitis*, 40(2), 79-86.
10. Bagnoli, B., & Gargani, E., (2011). Indagine sulla distribuzione delle uova di *Scaphoideus titanus* sulla vite. *Bollettino IOBC/wprs* , 67 , 233-237.
11. Barba M., (2005). La lotta obbligatoria alla flavescenza dorata e al suo vettore *Scaphoideus titanus*. In: Flavescenza dorata e altri giallumi della vite in Toscana e in Italia, Bertaccini A. & Braccini P. Eds. Quaderno ARSIA, 3/2005: 135-138.
12. Barnett, D. E., (1976). A revision of the Nearctic species of the genus *Scaphoideus* (Homoptera: Cicadellidae). *Transactions of the American Entomological Society (1890-)*, 102(4), 485-593.
13. Belli G., Fortusini A., Osier R., (1978). Present knowledge on diseases of the type "Flavescenza doree" in vineyards of Northern Italy. Proceedings of the 6th Meeting of ICVG, Cordoba, Spain, 1976 (Monografias INIA No. 18, 1978): 7-13.
14. Belli G., Fortusini A., Rui D., Pizzoli L., Torresin G., (1983). Gravi danni da Flavescenza dorata in vigneti di Pinot nel Veneto. *L'informatore agrario* 39: 24431-24433.
15. Belli, G., Bianco, P. A., & Conti, M., (2010). Grapevine yellows in Italy: past, present, and future. *Journal of Plant Pathology*, 303-326.
16. Belli, G., Fortusini, A., Osler, R., & Amici, A., (1973). Presenza di una malattia del tipo «flavescenza dorée» in vigneti dell'Oltrepò pavese. *Rivista di Patologia Vegetale*, 50-56.
17. Bernardini, C., Santi, S., Mian, G., Levy, A., Buoso, S., Suh, J. H., ... & Musetti, R., (2022). Increased susceptibility to *Chrysanthemum* Yellows phytoplasma infection in *Atcals7ko* plants is accompanied by enhanced expression of carbohydrate transporters. *Planta*, 256(2), 1-17.
18. Bertaccini A., S. Paltrinieri, N. Contaldo, B. Duduk, S. Nahdi, A. Benni and M.G. Bellardi., (2009). Different phytoplasmas infecting purple coneflower in Italy. In: Abstracts, XV Convegno Nazionale Società Italiana di Patologia Vegetale, 28 settembre–1° ottobre 2009, Locorotondo (Bari), Italy, 85.
19. Bertaccini, A., (2007). Phytoplasmas: diversity, taxonomy, and epidemiology. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 12(2), 673-689.

20. Bertaccini, A., Paltrinieri, S., Botti, S., Duduk, B., Fiore, N., Kolber, M., ... & Conti, M., (2006). Diversity of 16SrXII phytoplasmas detected in grapevine growing areas worldwide. In *Extended abstracts 15th Meeting ICVG, Stellenbosch, South Africa*-pp. 3-7.
21. Bertaccini, A., Vibio, M., & Stefani, E., (1995). Detection and molecular characterization of phytoplasmas infecting grapevine in Liguria (Italy). *Phytopathologia mediterranea*, 34(2), 137-141.
22. Bertamini, M., Nedunchezian, N., & Borghi, B., (2001). Effect of iron deficiency induced changes on photosynthetic pigments, ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase, and photosystem activities in field grown grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir) leaves. *Photosynthetica*, 39(1), 59-65.
23. Bianco, P. A., Alma, A., Casati, P., Scattini, G., & Arzone, A., (2001). Transmission of 16SrV phytoplasmas by *Scaphoideus titanus* Ball in northern Italy.
24. Bonfils, J., Schvester, D., (1960) Les cicadelles (Homoptera Auchenorrhyncha) dans leurs rapports avec la vigne dans le SudOuest de la France. *Annales des Epiphyties* 11: 325-336.
25. Bosco, D. & Mori, N., (2013). Controllo vettoriale "Flavescenza dorata" in Italia. Nuove prospettive nella gestione delle malattie da fitoplasma , 41.
26. Bosco, D., Alma, A., & Arzone, A., (1997). Studies on population dynamics and spatial distribution of leafhoppers in vineyards (Homoptera: Cicadellidae). *Annals of applied Biology*, 130(1), 1-11.
27. Bosio, G. & Rossi, A., (2001). Ciclo biologico in Piemonte di *Scaphoideus titanus*. *Inf Agrar* 57:75-78.
28. Boudon-Padieu, E., (2003). The situation of grapevine yellows and current research directions: distribution, diversity, vectors, diffusion and control. In *Proceedings of XV International Conference of Virus and Virus-like diseases of Grapevine* (pp. 47-53). Locorotondo (Italy).
29. Bressan, A., Girolami, V., & Boudon-Padieu, E., (2005). Reduced fitness of the leafhopper vector *Scaphoideus titanus* exposed to Flavescence dorée phytoplasma. *Entomologia experimentalis et applicata*, 115(2), 283-290.
30. Buoso, S., Pagliari, L., Musetti, R., Martini, M., Marroni, F., Schmidt, W., & Santi, S., (2019). 'Candidatus Phytoplasma solani' interferes with the distribution and uptake of iron in tomato. *BMC genomics*, 20(1), 1-21.
31. Caglayan, K., Gazel, M., & Škorić, D., (2019). Transmission of phytoplasmas by agronomic practices. In *Phytoplasmas: Plant Pathogenic Bacteria-II* (pp. 149-163). Springer, Singapore.
32. Cara, C., Trivellone, V., Linder, C., Junkert, J., & Jermini, M., (2013). Influence de la gestion des repousses du tronc et du bois de taille sur les densités de *Scaphoideus titanus*. *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic*, 45(2), 114-119.
33. 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 yellow agents. *Vitis*, 33(4), 231-234.
34. Carraro, L., Osier, R., Loi, N., Refatti, E., Girolami, V., (1986). Diffusione nella regione Friuli-Venezia Giulia di una grave malattia della vite assimilabile alia Flavescenza dorata. *Un Vigneto Chiamato Friuli* 4(5):4-9.
35. Carton, Y., Sorensen, C., Smith, J., & Smith, E., (2007). Une coopération exemplaire entre entomologistes en français et américains pendant la crise du Phylloxera en France (1868-1895). In *Annales de la Société entomologique de France* (Vol. 43, No. 1, pp. 103-125). Taylor & Francis Group.
36. Caudwell A., (1961). Etude sur la maladie du bois noir de la vigne: ses rapports avec la Flavescence doree. *Annales des Epi-phyties* 12: 241-262.
37. Caudwell, A., (1957). Deux années d'études sur la Flavescence dorè, nouvelle maladie grave de la vigne. *Ann Amelior Plant* 4:359-393.
38. Caudwell, A., Giannotti, J., Kuszala, C., Larrue, J., (1971). Etude du role de particules de type "Mico-plasme" dans l'etiologie de la Flavescence doree de la vigne. Examen cytologique des plantes malades et des cicadelles infectieuses. *Annales de Phytopathologies* 3: 107-123.
39. 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*

- littoralis BALL et l'étude de sa survie sur un grand nombre d'espèces végétales. *Ann Pytopathol* 2:415–428.
40. Caudwell, A., Larrue, J., Boudon-Padieu, E., & McLean, G. D., (1997). Flavescence dorée elimination from dormant wood of grapevines by hot-water treatment. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 3(1), 21-25.
 41. Caudwell, A., Larrue, J., Valat, C., Grenan, S., (1990). Les traitements à l'eau chaude des bois de vigne atteints de la Flavescence dorée. *Prog Agric Vitic* 107:281–286.
 42. Chuche, J., & Thiéry, D., (2014). Biology and ecology of the Flavescence dorée vector *Scaphoideus titanus*: a review. *Agronomy for sustainable development*, 34(2), 381-403.
 43. Chuche, J., Boursault, A., & Thiery, D., (2011). Preliminary study of the aggregative behaviour of *Scaphoideus titanus* larvae. *IOBC/wprs Bull*, 67, 239-244.
 44. Chuche, J., Thiéry, D., (2009). Cold winter temperatures condition the egg-hatching dynamics of a grape disease vector. *Naturwissenschaften* 96:827–834.
 45. Chung, W. C., Chen, L. L., Lo, W. S., Lin, C. P., & Kuo, C. H., (2013). Comparative analysis of the peanut witches'-broom phytoplasma genome reveals horizontal transfer of potential mobile units and effectors. *PLoS One*, 8(4), e62770.
 46. Cimerman, A., Pacifico, D., Salar, P., Marzachi, C., & Foissac, X., (2009). Striking diversity of vmp1, a variable gene encoding a putative membrane protein of the stolbur phytoplasma. *Applied and environmental Microbiology*, 75(9), 2951-2957.
 47. Conigliaro, G., Jamshidi, E., Lo Verde, G., Bella, P., Mondello, V., Giambra, S., ... & Romanazzi, G., (2020). Epidemiological investigations and molecular characterization of 'Candidatus *Phytoplasma solani*' in grapevines, weeds, vectors and putative vectors in western Sicily (Southern Italy). *Pathogens*, 9(11), 918.
 48. Constable, F. E., & Symons, R. H., (2004). Genetic variability amongst isolates of Australian grapevine phytoplasmas. *Australasian Plant Pathology*, 33(1), 115-119.
 49. Conti M., Alma A., (2002). Fitoplasmii e insetti vettori. *Petria* 12: 353-359.
 50. Cordova, I., Jones, P., Harrison, N. A., & Oropeza, C., (2003). In situ PCR detection of phytoplasma DNA in embryos from coconut palms with lethal yellowing disease. *Molecular Plant Pathology*, 4(2), 99-108.
 51. Cravedi, P., Mazzoni, E., Cervato, P., (1993). Osservazioni sulla biologia di *Scaphoideus titanus* Ball (Homoptera: Cicadellidae). *Redia* 76:57–70.
 52. Credi R., Babini A.R., (1984). Casi epidemici di giallume della vite in Emilia-Romagna. *Vignevini* 3: 35-3
 53. Daire X., Clair D., Larrue J., Boudon-Padieu E., Caudwell A., (1993). Diversity among mycoplasma-like organisms inducing grapevine yellows in France. *Vitis* 32: 159-163.
 54. Daire, X., Clair, D., Reinert, W., & Boudon-Padieu, E., (1997). Detection and differentiation of grapevine yellows phytoplasmas belonging to the elm yellows group and to the stolbur subgroup by PCR amplification of non-ribosomal DNA. *European Journal of Plant Pathology*, 103(6), 507-514.
 55. Danielli, A., Bertaccini, A., Bosco, D., Alma, A., Vibio, M., & Arzone, A., (1996). May evidence of 16Srl-group-related phytoplasmas in eggs, nymphs and adults of *Scaphoideus titanus* Ball suggest their transovarial transmission? *IOM letters*, 4, 190-191.
 56. Danielli, A., Bertaccini, A., Vibio, M., Mori, N., Murari, E., Posenato, G., & Girolami, V., (1996). Detection and molecular characterization of phytoplasmas in the planthopper *Metcalfa pruinosa* (Say)(Homoptera: Flatidae). *Phytopathologia mediterranea*, 35(1), 62-65.
 57. Davis, R. E., Dally, E. L., Gundersen, D. E., Lee, M., & Habili, N., (1997). "Candidatus *Phytoplasma australiense*," a new phytoplasma taxon associated with Australian grapevine yellows. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47(2), 262-269.
 58. Debonneville, C., Mandelli, L., Brodard, J., Groux, R., Roquis, D., & Schumpp, O., (2022). The Complete Genome of the "Flavescence Dorée" Phytoplasma Reveals Characteristics of Low Genome Plasticity. *Biology*, 11(7), 953.

59. Denoux, C., Galletti, R., Mammarella, N., Gopalan, S., Werck, D., De Lorenzo, G., ... & Dewdney, J., (2008). Activation of defense response pathways by OGs and Flg22 elicitors in Arabidopsis seedlings. *Molecular plant*, 1(3), 423-445.
60. Dermastia, M. (2019). Plant hormones in phytoplasma infected plants. *Frontiers in plant science*, 10, 477.
61. Dermastia, M., Bertaccini, A., Constable, F., & Mehle, N., (2017). Erratum: Grapevine Yellows Diseases and Their Phytoplasma Agents. In *Grapevine Yellows Diseases and Their Phytoplasma Agents* (pp. E1-E1). Springer, Cham.
62. Doi, Y. O. J. I., 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. *Japanese Journal of Phytopathology*, 33(4), 259-266.
63. Duduk, B., & Bertaccini, A., (2006). Corn with symptoms of reddening: new host of stolbur phytoplasma. *Plant Disease*, 90(10), 1313-1319.
64. Egger, E., Borgo, M., (1983). Diffusione di una malattia virus simile su Chardonnay ed altre cultivar nel Veneto. *L'informatore Agrario* 39(16): 25547-2555.
65. Eriksson, A., Anfora, G., Lucchi, A., Lanzo, F., Virant-Doberlet, M., Mazzoni, V., (2012). Exploitation of insect vibrational signals reveals a new method of pest management. *PLoS ONE* 7:5.
66. Firrao, G., Garcia-Chapa, M., & Marzachi, C., (2007). Phytoplasmas: genetics, diagnosis and relationships with the plant and insect host. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 12(4), 1353-1375.
67. García, M. A., Costea, M., Kuzmina, M., & Stefanović, S., (2014). Phylogeny, character evolution, and biogeography of *Cuscuta* (dodders; Convolvulaceae) inferred from coding plastid and nuclear sequences. *American Journal of Botany*, 101(4), 670-690.
68. Gasparich, G. E., (2010). Spiroplasmas and phytoplasmas: microbes associated with plant hosts. *Biologicals*, 38(2), 193-203.
69. Gonella, E., Negri, I., Mandrioli, M., Crotti, E., Tedeschi, R., Daffonchio, D., & Alma, A., (2011). Relazioni multi-partite tra i batteri simbiotici di *Hyalesthes obsoletus*. In *XXIII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia* (pp. 348-348). Erredi arti grafiche.
70. Granett, J., Walker, M.A., Kocsis, L., Omer, A.D., (2001). Biology and management of grape phylloxera. *Ann Rev Entomol* 46:387-412.
71. Harari, A.R., Zahavi, T., & Steinitz, H., (2015). Female detection of the synthetic sex pheromone contributes to the efficacy of mating disruption of the European grapevine moth, *Lobesia botrana*. *Pest management science*, 71(2), 316-322.
72. Hoshi, A., Oshima, K., Kakizawa, S., Ishii, Y., Ozeki, J., Hashimoto, M., Komatsu K., Kagiwada S., Yamaji Y., Namba, S., (2009). A unique virulence factor for proliferation and dwarfism in plants identified from a phytopathogenic bacterium. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 106 (15): 6416-6421.
73. Huang, C.T., Cho, S.T., Lin, Y.C., Tan, C.M., Chiu, Y.C., Yang, J.Y., Kuo, C.H., (2022). Comparative Genome Analysis of 'Candidatus Phytoplasma luffae' Reveals the Influential Roles of Potential Mobile Units in Phytoplasma Evolution. *Front. Microbiol*, 22, 13, 773608
74. Jung, H.Y., Miyata, S.I., Oshima, K., Kakizawa, S., Nishigawa, H., Wei, W., ... & Namba, S., (2003). First complete nucleotide sequence and heterologous gene organization of the two rRNA operons in the phytoplasma genome. *DNA and Cell Biology*, 22(3), 209-215.
75. Kakizawa, S., Oshima, K., Kuboyama, T., Nishigawa, H., Jung, H. Y., Sawayanagi, T., ... & Namba, S., (2001). Cloning and expression analysis of phytoplasma protein translocation genes. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 14(9), 1043-1050.
76. Kube, M., Mitrovic, J., Duduk, B., Rabus, R., and Seemuller, E., (2012). Current view on phytoplasma genomes and encoded metabolism. *Sci. World J.* 2012, 185942.

77. Kube, M., Schneider, B., Kuhl, H., Dandekar, T., Heitmann, K., Migdoll, A. M., et al., (2008). The linear chromosome of the plant-pathogenic mycoplasma 'Candidatus Phytoplasma mali'. *Bmc Genomics*, 9 (1), 1-14.
78. Lee I-M., D.E. Gundersen-Rindal and Bertaccini, A., (1998b). Phytoplasma: ecology and genomic diversity. *Phytopathology* 88, 1359–1366.
79. Lee I-M., D.E. Gundersen-Rindal, Bertaccini, A., (1998b). Phytoplasma: ecology and genomic diversity. *Phytopathology* 88, 1359–1366. Lee I-M., D.E. Gundersen-Rindal, R.E. Davis and I.M. Bartoszyk, 1998a. Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analysis of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences. *International Journal of Systematic Bacteriology* 48, 1153–1169.
80. Lee I-M., Davis, R.E. and Gundersen-Rindal, D.E., (2000). Phytoplasmas: phytopathogenic mollicutes. *Annual Review of Microbiology* 56, 1593–1597.
81. Lee I-M., M. Klopmeier, I.M. Bartoszyk, D.E. Gundersen-Rindal, T. Chou, K.L. Thomson and Eisenreich, R., (1997a). Phytoplasma induced free-branching in commercial poinsettia cultivars. *Nature Biotechnology* 15, 178–182.
82. Lee, I.M. and Davis, R.E., (1992). Mycoplasmas which infect plants and insects. In: *Mycoplasmas: molecular biology and pathogenesis*. Eds: Maniloff, McElhaney, Finch, and Baseman. American Society of Microbiology, Washington. 379-390.
83. Lessio, F., & Alma, A., (2004). Seasonal and daily movement of *Scaphoideus titanus* Ball (Homoptera: Cicadellidae). *Environmental Entomology*, 33(6), 1689-1694.
84. Lessio, F., & Alma, A., (2006). Influence of grapevine presence in different ecosystems on the density of *Scaphoideus titanus* Ball (Homoptera: Cicadellidae). *IOBC WPRS BULLETIN*, 29(11), 155.
85. Lessio, F., & Alma, A., (2006). Spatial distribution of nymphs of *Scaphoideus titanus* (Homoptera: Cicadellidae) in grapes, and evaluation of sequential sampling plans. *Journal of Economic Entomology*, 99(2), 578-582.
86. Lessio, F., Tedeschi, R., & Alma, A., (2007). Presence of *Scaphoideus titanus* on American grapevine in woodlands, and infection with "flavescence dorée" phytoplasmas. - *Bull. Insectol.*, 60: 373-374.
87. Lessio, F., Tedeschi, R., Pajoro, M., Alma, A., (2009b) Seasonal progression of sex ratio and phytoplasma infection in *Scaphoideus titanus* Ball (Hemiptera: Cicadellidae). *Bull Entomol Res* 99:377–383.
88. Linder, C., Schaub, L., & Klötzli-Estermann, F., (2010). Efficacité du traitement à l'eau chaude contre les oeufs de *Scaphoideus titanus*, vecteur de la flavescence dorée de la vigne. *Rev Suisse Vitic Arboric Hortic*, 42, 132-135.
89. Lucchi, A., Mazzoni, V., Presern, J., Virant-Doberlet, M., (2004). Mating behaviour of *Scaphoideus titanus* Ball (Hemiptera: Cicadellidae). Paper presented at the 3rd European Hemiptera Congress, Saint Petersburg, Russia, 8-11 June 2004.
90. Mackey, D., & McFall, A. J., (2006). MAMPs and MIMPs: proposed classifications for inducers of innate immunity. *Molecular microbiology*, 61(6), 1365-1371.
91. Magarey PA., Watchel M.F., (1982). The Rhine Riesling problem: recent findings. *The Australian Grapegrower and Wine- maker* 220: 7, 8-8.
92. Maggi, F., Bosco, D., Galetto, L., Palmano, S., & Marzachi, C., (2017). Space-time point pattern analysis of flavescence dorée epidemic in a grapevine field: Disease progression and recovery. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1987.
93. Mahla, R. S., Reddy, M. C., Prasad, D. V. R., & Kumar, H., (2013). Sweeten PAMPs: role of sugar complexed PAMPs in innate immunity and vaccine biology. *Frontiers in immunology*, 4, 248.
94. Maixner, M., Kroehner, D., & Kappel, Y., (2011). Symptom remission and recovery in 'bois noir' infected grapevines. *Bulletin of Insectology*, 64(Suppl), S175-S176.
95. Maixner, M., Pearson, R.C., Boudon-Padieu, E., Caudwell, A., (1993). *Scaphoideus titanus*, a possible vector of Grapevine Yellows in New York. *Plant Dis* 77:408–413.

96. Malausa, J. C., Nusillard, B., & Giuge, L., (2003). Lutte biologique contre la cicadelle vectrice de la flavescence dorée. *Phytoma*, 24-29.
97. Malausa, J.C., Sentenac, G., (2011) Parasitoïdes de *Scaphoideus titanus*. In: Sentenac G (ed) La faune Auxiliaire des vignobles de France. France Agricole, Paris, pp 143–146.
98. Matus, J. T., Vega, A., Loyola, R., Serrano, C., Cabrera, S., & Arce-Johnson, P., (2008). Phytoplasma and virus detection in commercial plantings of *Vitis vinifera* cv. Merlot exhibiting premature berry dehydration. *Electronic Journal of Biotechnology*, 11(5), 7-8.
99. Mazzoni, V., Loriatti C., Trona, F., Lucchi, A., De Cristofaro, A., & Anfora, G., (2009). Study on the role of olfaction in host plant detection of *Scaphoideus titanus* (Hemiptera: Cicadellidae) nymphs. *Journal of economic entomology*, 102(3), 974-980.
100. Mazzoni, V., Lucchi, A., Čokl, A., Prešern, J., & Virant-Doberlet, M., (2009). Disruption of the reproductive behaviour of *Scaphoideus titanus* by playback of vibrational signals. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 133(2), 174-185.
101. Mazzoni, V., Prešern, J., Lucchi, A., & Virant-Doberlet, M., (2009). Reproductive strategy of the nearctic leafhopper *Scaphoideus titanus* Ball (Hemiptera: Cicadellidae). *Bulletin of Entomological Research*, 99(4), 401-413.
102. Mazzoni, V., Trona, F., oriatti, C., Lucchi, A., Eriksson, A., & Anfora, G., (2011). Attractiveness of different colours to *Scaphoideus titanus* Ball (Hemiptera: Cicadellidae) adults. *IOBC/wprs Bull*, 67, 281-284.
103. McCoy, R.E., Caudwell, A., Chang, C.J., Chen, T.A., Chiykowsky, L.N., Cousin, M.T., Dale, J.L., de Leuw, G.T.N., Golino, D.A., Hackett, K.J., Kirkpatrick, B.C., Marwitz, R., Petzold, H., Sinha, R.C., Sugiura, M., Whitcomb, R.F., Yang, I.L., Zhu, B.M., and Seemüller, E., (1989). Plant diseases associated with mycoplasma-like organisms. In: *The Mycoplasmas*. Eds. Whitcomb and Tully. Academic Press, 545- 640.
104. Mori, N., & Pavan, F., (2014). Strategie di controllo dei vettori associati ai giallumi della vite. *Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia*, 62, 215-220.
105. Mori, N., Pavan, F., & Maixner, M., (2014). Control of *Hyalesthes obsoletus* nymphs based on chemical weeding and insecticides applied on *Urtica dioica*. *Vitis*, 53(2), 103-109.
106. Morone, C., Boveri, M., Giosue, S., Gotta, P., Rossi, V., Scapin, I., & Marzachi, C., (2007). Epidemiology of Flavescence dorée in vineyards in northwestern Italy. *Phytopathology*, 97(11), 1422-1427.
107. Murrall, D. J., Nault, L. R., Hoy, C. W., Madden, L. V., & Miller, S. A., (1996). Effects of temperature and vector age on transmission of two Ohio strains of aster yellows phytoplasma by the aster leafhopper (Homoptera: Cicadellidae). *Journal of Economic Entomology*, 89(5), 1223-1232.
108. Musetti, R., Buxa, S. V., De Marco, F., Loschi, A., Polizzotto, R., Kogel, K. H., & van Bel, A. J., (2013). Phytoplasma-triggered Ca²⁺ influx is involved in sieve-tube blockage. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 26(4), 379-386.
109. Musetti, R., Di Toppi, L. S., Ermacora, P., & Favali, M. A., (2004). Recovery in apple trees infected with the apple proliferation phytoplasma: an ultrastructural and biochemical study. *Phytopathology*, 94(2), 203-208.
110. Musetti, R., Di Toppi, L. S., Martini, M., Ferrini, F., Loschi, A., Favali, M. A., & Osler, R., (2005). Hydrogen peroxide localization and antioxidant status in the recovery of apricot plants from European Stone Fruit Yellows. *European Journal of Plant Pathology*, 112(1), 53-61.
111. Musetti, R., Farhan, K., De Marco, F., Polizzotto, R., Paolacci, A., Ciaffi, M., ... & Osler, R., (2013). Differentially-regulated defence genes in *Malus domestica* during phytoplasma infection and recovery. *European Journal of Plant Pathology*, 136(1), 13-19.
112. Musetti, R., Marabottini, R., Badiani, M., Martini, M., di Toppi, L. S., Borselli, S., ... & Osler, R., (2007). On the role of H₂O₂ in the recovery of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Prosecco) from Flavescence dorée disease. *Functional Plant Biology*, 34(8), 750-758.

113. Musetti, R., Paolacci, A., Ciaffi, M., Tanzarella, O. A., Polizzotto, R., Tubaro, F., ... & Osler, R., (2010). Phloem cytochemical modification and gene expression following the recovery of apple plants from apple proliferation disease. *Phytopathology*, 100(4), 390-399.
114. Oliveira, M. J., Castro, S., Paltrinieri, S., Bertaccini, A., Sottomayor, M., Santos, C. S., ... & Carvalho, S. M., (2020). "Flavescence dorée" impacts growth, productivity and ultrastructure of *Vitis vinifera* plants in Portuguese "Vinhos Verdes" region. *Scientia Horticulturae*, 261, 108742.
115. Oshima, K., Kakizawa, S., Arashida, R., Ishii, Y., Hoshi, A., Hayashi, Y., ... & Namba, S., (2007). Presence of two glycolytic gene clusters in a severe pathogenic line of Candidatus *Phytoplasma asteris*. *Molecular Plant Pathology*, 8(4), 481-489.
116. Oshima, K., Kakizawa, S., Nishigawa, H., Jung, H. Y., Wei, W., Suzuki, S., ... & Namba, S., (2004). Reductive evolution suggested from the complete genome sequence of a plant-pathogenic phytoplasma. *Nature genetics*, 36(1), 27-29.
117. Osler R., Carraro L., Ermacora P., Ferrini F., Loi N., Loschi A., Martini M., Mutton P.B., Refatti E., (2003). Roguing: a controversial practice to eradicate grape yellows caused by phytoplasmas. 14th ICVG Meeting. Locorotondo (BA) Sept. 2003: 68.
118. Osler R., Carraro L., Loi N., Refatti E., (1993). Symptom expression and disease occurrence of a yellow disease of grapevine in northeastern Italy.- *Plant Disease*, 77: 496-498.
119. Osler, R., Loi, N., Carraro, L., Ermacora, P., Refatti, E., (2000). Recovery in plants affected by phytoplasmas. Proceedings of the 5th Congress of the European Foundation for Plant Pathology, Taormina, Italy, September 18–22 2000, pp. 589–592.
120. Papura, D., Burban, C., Van Helden, M., Giresse, X., Nusillard, B., Guillemaud, T., & Kerdelhue, C., (2012). Microsatellite and mitochondrial data provide evidence for a single major introduction for the Nearctic leafhopper *Scaphoideus titanus* in Europe. *PLoS One*, 7(5), e36882.
121. Pavan, F., Mori, N., Bigot, G., & Zandigiaco, P., (2012). Border effect in spatial distribution of Flavescence dorée affected grapevines and outside source of *Scaphoideus titanus* vectors. *Bull. Insectol*, 65(2), 281-290.
122. Pavan, F., Pavanetto, E., Duso, C., & Girolami, V., (1988). Population dynamics of *Empoasca vitis* (Goethe) and *Zygina rhamni* (Ferr.) on vines in northern Italy. Proceedings of the 6th Auchenorrhyncha Meeting. Turin, Italy, September 7-11, 1987: pp. 517-524.
123. Pérez-Donoso, A. G., Sun, Q., Roper, M. C., Greve, L. C., Kirkpatrick, B., & Labavitch, J. M., (2010). Cell wall-degrading enzymes enlarge the pore size of intervessel pit membranes in healthy and *Xylella fastidiosa*-infected grapevines. *Plant physiology*, 152(3), 1748-1759.
124. Posenato, G., Mori, N., Bressan, A., Girolami, V., & Sancassani, G. P., (2001). *Scaphoideus titanus*, vettore della flavescenza dorata: conoscerlo per combatterlo. *INFORMATORE AGRARIO*, 57(15), 91-94.
125. Pracros, P., Renaudin, J., Eveillard, S., Mouras, A., & Hernould, M., (2006). Tomato flower abnormalities induced by stolbur phytoplasma infection are associated with changes of expression of floral development genes. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19(1), 62-68.
126. Prince, J. P., Davis, R. E., Wolf, T. K., Lee, I. M., Mogen, B. D., Dally, E. L., ... & 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(10), 1130-1137.
127. Rafaila C, Costache M., (1970). Ingialbenirea aurie (Flavescence doree), o boata noua a Vitei de Vie in Romania. *Analele Institutului Cercetari Pentru Proteccia Plantelor* 6: 15 1-1
128. Razin, S., Yogev, D., & Naot, Y., (1998). Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. *Microbiology and molecular biology reviews*, 62(4), 1094-1156.
129. Rumbos, I., (1979). Studies on the etiology of a yellows disease of grapevines in Greece/Untersuchungen zur Ätiologie einer Vergilbungskrankheit der Reben in

- Griechenland. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz/Journal of Plant Diseases and Protection*, 266-273.
130. Santi, S., De Marco, F., Polizzotto, R., Grisan, S., & Musetti, R., (2013). Recovery from stolbur disease in grapevine involves changes in sugar transport and metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 4, 171.
 131. Saracco, P., Marzachi, C., & Bosco, D., (2008). Activity of some insecticides in preventing transmission of chrysanthemum yellows phytoplasma ('Candidatus Phytoplasma asteris') by the leafhopper *Macrostelus quadripunctulatus* Kirschbaum. *Crop Protection*, 27(1), 130-136.
 132. Schvester, D., (1962) Sur les causes de la propagation en Armagnac et en Chalosse de la Flavescence dorée de la vigne. *Rev Zool Agr* 10–12: 132–135.
 133. Schvester, D., Carle, P., Moutous, G., (1963). Transmission de la Flavescence dorée de la vigne par *Scaphoideus littoralis* Ball. (Homopt. Jassidae). *Annales des Épiphyties*, 14 (3): 175-198.
 134. Schvester, D., Moutous, G., Carle, P., (1962b). *Scaphoideus littoralis* Ball. (Homopt. Jassidae) cicadelle vectrice de la Flavescence dorée de la vigne. *Rev Zool Agr Appl* 10–12:118–131.
 135. Schwartz, Y., Boudon-Padieu, E., Grange, J., Meignoz, R., & Caudwell, A., (1989). Obtention d'anticorps monoclonaux spécifiques de l'agent pathogène de type mycoplasme (MLO) de la flavescence dorée de la vigne. *Research in microbiology*, 140(4), 311-324.
 136. Seljak, G., (1987) *Scaphoideus titanus* Ball (= *Sc. littoralis* Ball), novi stetnik vinove loze u Jugoslaviji. *Zast Bilja* 38:349–357.
 137. Szegedy, C., Liu, W., Jia, Y., Sermanet, P., Reed, S., Angelov, D., ... & Rabinovich, A., (2015). Going deeper with convolutions. In *Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition* (pp. 1-9).
 138. Szegedy, C., Vanhoucke, V., Ioffe, S., Shlens, J., & Wojna, Z., (2016). Rethinking the inception architecture for computer vision. In *Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition* (pp. 2818-2826).
 139. Tanne, E., (1973). Virus diseases of grapevine in Israel. *Vitis*, 12, 222-225.
 140. Tedeschi, R., Ferrato, V., Rossi, J., & Alma, A., (2006). Possible phytoplasma transovarial transmission in the psyllids *Cacopsylla melanoneura* and *Cacopsylla pruni*. *Plant pathology*, 55(1), 18-24.
 141. Tolu, G., Botti, S., Garau, R., Prota, V. A., Sechi, A., Prota, U., & Bertaccini, A., (2006). Identification of a 16SrII-E Phytoplasma in *Calendula arvensis*, *Solanum nigrum*, and *Chenopodium* spp. *Plant Disease*, 90(3), 325-330.
 142. Vidano, C., (1964). Scoperta in Italia dello *Scaphoideus littoralis* Ball cicalina americana collegata alla "Flavescence dorée" della Vite. *Italia Agricola* 101:1031–1049.
 143. Wang, X., Jiang, N., Liu, J., Liu, W., & Wang, G. L., (2014). The role of effectors and host immunity in plant–necrotrophic fungal interactions. *Virulence*, 5(7), 722-732.
 144. Zaffaroni-Caorsi, V., Nieri, R., Pugno, N. M., & Mazzoni, V., (2022). Effect of vibrational mating disruption on flight activity and oviposition to control the grapevine pest, *Scaphoideus titanus*. *Arthropod Structure & Development*, 69, 101173.
 145. Zelger, E., (1964). "Flavescence doree" eine gefährliche viruskrankheit der rebe auch in Siidtirol verbreitet? *Obstbau Weinbdu* 2: 6-7.
 146. Zhou, R., Kaneko, S. I., Tanaka, F., Kayamori, M., & Shimizu, M., (2014). Disease detection of *Cercospora* Leaf Spot in sugar beet by robust template matching. *Computers and electronics in agriculture*, 108, 58-70.

8. SITOGRAFIA

<https://www.regione.veneto.it/web/fitosanitario/flavescenza-dorata>

https://www.regione.veneto.it/static/www/agricoltura-e-foreste/dm_31_05_00.pdf

https://veneto.coldiretti.it/wpcontent/uploads/2022/06/RegVE_flyer_Flavescenza_dorata_LOW_web_070622.pdf

<https://bur.regione.veneto.it/BurServices/pubblica/DettaglioDgr.aspx?id=478879>

<https://www.informatoreagrario.it/news/flavescenza-dorata-e-cocciniglie-della-vite-dal-monitoraggio-alle-strategie-di-difesa/>