

Convegno:

Aggiornamenti sulla flavescenza dorata
e i vettori coinvolti nella sua epidemiologia

9 maggio 2023

Relatori

Marta Martini, Cristina Marzachì, Alberto Alma, Elena Gonella,
Bruno Caio Faraglia, Vanessa Modesti, Francesco Faggioli, Luca Ferretti

Sintesi

La Flavescenza dorata si è diffusa in Europa e in Italia a partire dalla metà del secolo scorso grazie all'arrivo in Europa del cicadellide neartico *Scaphoideus titanus*, strettamente associato alla vite e vettore primario dei fitoplasmi "agenti" della malattia. Negli ultimi anni questa fitoplasmosi ha mostrato una preoccupante recrudescenza epidemica, verosimilmente dovuta a più fattori del sistema "vite-fitoplasmi-vettori" e alle sue interazioni con l'agro-ecosistema vigneto. Un ruolo non secondario rivestono i cambiamenti climatici e la contrazione della farmacopea ammessa dalla legislazione vigente. In considerazione dell'urgenza di fronteggiare questa nuova emergenza fitosanitaria, la presente giornata di studio, organizzata su proposta del Comitato Consultivo sui problemi della difesa delle piante, intende avviare un percorso di informazione e interlocuzione rivolto al mondo tecnico di settore, per promuovere il trasferimento alle aziende e al territorio sia dei risultati maturi della ricerca, sia degli indirizzi di "lotta obbligatoria", definiti dai competenti servizi fitosanitari. Di fatto, i tecnici delle scienze agrarie, iscritti agli ordini e ai collegi di riferimento, sono riconosciuti da tempo come le figure più prossime a quelle del "consulente fitosanitario" previsto, con ampi compiti di sostegno e miglioramento delle aziende, dal quadro legislativo europeo volto a una progressiva riduzione dei prodotti fitosanitari di sintesi e alla diffusione di una "viticoltura di precisione".

MARTA MARTINI¹

Flavescenza dorata: potenzialità offerte dalle nuove tecnologie molecolari per lo studio di una fitoplasmosi riemergente della vite

¹ Dipartimento di Scienze AgroAlimentari, Ambientali e Animali, Università degli Studi di Udine

La flavescenza dorata (FD) e il legno nero (LN) sono le principali malattie da fitoplasmi che colpiscono la vite in Europa. I fitoplasmi associati appartengono rispettivamente ai sottogruppi 16SrV-C e -D (FDp) e 16SrXII-A ('*Candidatus Phytoplasma solani*', CaPsol). Il LN è meno epidemico della FD, che è una malattia da quarantena trasmessa da *Scaphoideus titanus*. Attualmente, il metodo di detection più rapido e affidabile dei fitoplasmi avviene tramite PCR quantitativa (qPCR). La diagnosi simultanea di FD e BN può essere ottenuta mediante qPCR con sonde o con un protocollo di EvaGreen qPCR e primer universali seguito da un'analisi di HRM. Per una differenziazione più fine di FDp, sono state implementate analisi di diversi geni come i geni housekeeping *rp*, *secY*, *map* e *malG* e il gene variabile della proteina di membrana *vmpA*. L'analisi filogenetica del gene *map* ha distinto tre cluster genetici Map-FD1, -FD2 e -FD3, ciascuno diverso per distribuzione geografica, variabilità genetica, vettore specifico e pianta serbatoio. Inoltre, è stato dimostrato che la variabilità della proteina Vmp è correlata con la capacità di vettori diversi di trasmettere FDp. Recentemente, è stato utilizzato un metodo che combina l'arricchimento del DNA del patogeno e due tecnologie di sequenziamento per ottenere il genoma completo di FDp, che ha dimostrato una bassa plasticità contrariamente a quello di CaPsol.

«Flavescence dorée: potential offered by new molecular technologies for the study of a re-emerging grapevine yellows disease»

*Flavescence dorée (FD) and bois noir (BN) are the main phytoplasma diseases affecting grapevines in Europe. The associated phytoplasmas belong to 16SrV-C and -D subgroups (FDp) and to 16SrXII-A ('Candidatus Phytoplasma solani', CaPsol), respectively. BN is less epidemic than FD, which is a quarantine disease transmitted by the leafhopper Scaphoideus titanus. Currently, the most rapid and reliable detection of phytoplasmas is through quantitative PCR (qPCR). Simultaneous detection of FD and BN can be obtained by a probe-based qPCR or with an EvaGreen qPCR protocol using universal primers on 16S rDNA followed by a high-resolution melting (HRM) analysis. For finer differentiation of FDp, analyses of several genes have been implemented such as housekeeping genes *rp*, *secY*, *map* and *malG* and variable surface membrane protein gene like *vmpA*. Phylogenetic*

analysis of the map gene has distinguished three FDp genetic clusters (Map-FD1, -FD2 and -FD3), each differing in geographical distribution, genetic variability, specific vector and reservoir plant. Moreover, the variability of the Vmp protein was shown to correlate with the ability of different vectors to transmit FDp. Very recently, a method combining pathogen DNA enrichment from infected insects and dual deep-sequencing technologies was used to obtain the complete genome of FDp, that revealed a low plasticity contrary to that of CaPsoI.

CRISTINA MARZACHÌ¹

Flavescenza dorata: novità sulle interazioni tra fitoplasma, pianta e vettore e nuove possibili strategie di difesa da una fitoplasmosi riemergente della vite

¹ CNR - Istituto per la protezione Sostenibile delle Piante (IPSP)

I fitoplasmi sono trasmessi da emitteri (Fulgoromorpha, Cicadomorpha e Sternorrhyncha). La Flavescenza dorata (FD) è una malattia della vite grave ed epidemica causata dal fitoplasma FDp, un organismo da quarantena per l'Unione Europea con obbligo di prevenzione e controllo. Nonostante gli interventi di lotta obbligatoria, a partire dal 2018-2019, è in corso in Nord Italia una recrudescenza di FD che si manifesta con aumentata presenza di viti sintomatiche e popolazioni del vettore localmente molto elevate. Questo è probabilmente dovuto alla complessa interazione tra numerosi fattori tra cui la suscettibilità varietale del genere *Vitis* e la diversa attività di repellenza nei confronti dell'insetto vettore, l'inaspettato ruolo della biodiversità del patogeno e la presenza di ulteriori vettori e piante ospiti che rendono il ciclo epidemiologico assai complesso. Esistono tuttavia diversi aspetti che possono contribuire a una gestione più sostenibile della malattia. Tra questi, l'identificazione dei meccanismi che regolano la specificità di trasmissione, con la speranza di ridurre e magari annullare la capacità vettoriale dell'insetto, ma anche l'esplorazione di strategie di difesa e gestione della malattia a basso impatto ambientale come l'utilizzo di elicitori di resistenza, della tecnica dell'RNA interferente, la ricerca di agenti di biocontrollo e l'utilizzo della capacità di risanamento delle piante infette.

«Flavescence dorée: news on the interactions between phytoplasma, plant and vector and new possible defense strategies against a re-emerging grapevine yellows disease»

Phytoplasmas are transmitted by hemipterans (Fulgoromorpha, Cicadomorpha and Sternorrhyncha). Flavescence dorée (FD) is a serious and epidemic grapevine disease caused by the FDp phytoplasma, a quarantine organism for the European

Union with an obligation for prevention and control. Despite the mandatory control interventions, starting from 2018/2019, a resurgence of FD is underway in northern Italy, which manifests itself with an increased presence of symptomatic vines and locally very high vector populations. This is probably due to the complex interaction between numerous factors including the varietal susceptibility of the genus Vitis and the different antibiosis and antixenosis activities against the vector insect, the unexpected role of the pathogen biodiversity and the presence of additional vectors and host plants, which make the epidemiological cycle very complex. However, several aspects can contribute to a more sustainable management of the disease. Among these, the identification of the mechanisms that regulate transmission specificity, aiming at reducing and perhaps enabling the vector capacity of the insect, but also the exploration of low-cost and environmental-friendly management strategies such as the use of resistance elicitors, the interfering RNA technique, the search for biocontrol agents and exploitation of plant recovery from the disease.

ALBERTO ALMA¹, ELENA GONELLA¹

I vettori: dinamica del ruolo nella epidemiologia della Flavescenza dorata

¹ Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi di Torino

La diffusione del fitoplasma agente della Flavescenza Dorata (FD) è dovuta alla trasmissione da parte di insetti vettori a regime alimentare floemomizo. Il ruolo dei vettori è largamente dipendente dal rapporto nutrizionale con la vite: il vettore principale è il cicadellide neartico monofago *Scaphoideus titanus* Ball, responsabile della trasmissione da vite a vite, mentre diverse altre specie di cicaline che solo occasionalmente si nutrono sulla vite sono state riconosciute come vettori secondari da piante spontanee. La rilevanza delle specie di vettori è in continua evoluzione, a causa del movimento, anche influenzato dal cambiamento climatico, di ceppi diversi del fitoplasma in diverse piante serbatoio, e di cicaline che presentano una competenza variabile nei confronti di diverse combinazioni pianta-patogeno. Infine, anche la gestione del vigneto ha una notevole influenza sulla dinamica epidemiologica della FD, soprattutto in relazione alle pratiche che possono incidere sull'abbondanza delle popolazioni di *S. titanus*. Ad esempio, la continua esposizione a un ridotto numero di principi attivi sembra aver contribuito a ridurre l'efficacia delle applicazioni insetticide tramite la selezione di popolazioni resistenti. Pertanto, rimane fondamentale per la gestione della malattia l'accurato monitoraggio dei vettori per definire le più appropriate pratiche da accompagnare alla lotta obbligatoria a *S. titanus* in relazione alle diverse realtà produttive.

«*Vectors: dynamics of their role in the epidemiology of Flavescence dorée*»

The diffusion of the phytoplasma agent of Flavescence dorée (FD) is due to the transmission by vector insects with a phloemomyzo diet. The role of the vectors largely depends on the nutritional relationship with the vine: the main vector is the monophagous nearctic leafhopper Scaphoideus titanus Ball, responsible for the transmission from vine to vine, while several other species of leafhoppers that only occasionally feed on the vine have been recognized as secondary vectors from wild plants. The relevance of vector species is constantly evolving, due to the movement, also influenced by climate change, of different phytoplasma strains in different reservoir plants, and leafhoppers that exhibit variable competence against different plant-pathogen combinations. Finally, vineyard management also has a significant influence on the epidemiological dynamics of FD, especially in relation to practices that can affect the abundance of S. titanus populations. For example, continuous exposure to a small number of active ingredients appears to have contributed to reducing the effectiveness of insecticide applications through the selection of resistant populations. Therefore, the accurate monitoring of the vectors remains essential for the management of the disease to define the most appropriate practices to accompany the mandatory fight against S. titanus in relation to the different production realities.

BRUNO CAIO FARAGLIA¹, VANESSA MODESTI²

Flavescenza dorata, malattia causata da un organismo nocivo da quarantena: misure di emergenza e norme europee

¹ Accademia dei Georgofili/Servizio Fitosanitario Centrale Italiano - MASAF

² CREA-DC, Servizio Fitosanitario Centrale Italiano

La comparsa in forma epidemica della fitoplasmosi Flavescenza dorata (FD), in diverse aree dell'Europa, in particolare Francia e Italia, ha richiesto la revisione delle misure di contrasto a questo organismo nocivo da quarantena.

Nel quadro del nuovo regime fitosanitario europeo, determinato dal Reg. (UE) 2016/2031, relativo alle misure di protezione contro i parassiti delle piante, e dal Reg. (UE) 2017/625, sui controlli ufficiali, il regolamento di esecuzione (UE) 2019/2072, definisce Flavescenza dorata, organismo nocivo da quarantena rilevante per l'Unione Europea e ne stabilisce le misure di controllo, introducendo, altresì, la termoterapia come misura fitosanitaria da utilizzare sul materiale di moltiplicazione della vite.

In Italia, a seguito della forte recrudescenza registrata nelle regioni del centro-nord, il Servizio fitosanitario nazionale ha intrapreso le azioni necessarie a contrastare la nuova emergenza.

Uno specifico Gruppo di lavoro tecnico-scientifico, nell'ambito del neo Segretariato per le emergenze fitosanitarie istituito dall'articolo 9 del decreto legislativo 2 febbraio 2021, n. 19, sta approfondendo i vari aspetti dell'emergenza: modalità di indagine, misure fitosanitarie urgenti, prodotti fitosanitari efficaci contro il vettore. Inoltre, è in corso di adozione la modifica del decreto di lotta obbligatoria (D.M. 31 maggio 2000, G.U. n.159 del 10 luglio 2000) per adeguare le necessarie misure fitosanitarie di contrasto.

«The epidemic appearance of the phytoplasmosis Flavescence dorée (FD), in various areas of Europe, in particular France and Italy, has required the revision of the measures to combat this quarantine pest»

In the framework of the new European phytosanitary regime, determined by Reg. (EU) 2016/2031, relating to protective measures against plant parasites, and by Reg. (EU) 2017/625, on official controls, the implementing regulation (EU) 2019/2072, defines Flavescence dorée, a quarantine pest relevant to the European Union and establishes its control measures, also introducing thermotherapy as a phytosanitary measure to be used on vine propagating material.

In Italy, following the strong upsurge recorded in the central-northern regions, the National Phytosanitary Service has undertaken the necessary actions to counter the new emergency.

A specific technical-scientific working group, within the new Secretariat for phytosanitary emergencies established by article 9 of the legislative decree 2 February 2021, n. 19, is investigating the various aspects of the emergency: methods of investigation, urgent phytosanitary measures, phytosanitary products effective against the vector. Furthermore, the modification of the mandatory pest control decree is being adopted (Ministerial Decree 31 May 2000, Official Gazette No. 159 of 10 July 2000) to adapt the necessary phytosanitary contrast measures.

FRANCESCO FAGGIOLI¹, LUCA FERRETTI¹

Il contributo della Rete nazionale dei laboratori nell'ottimizzazione e armonizzazione della diagnosi di FD e altri giallumi della vite

¹ CREA-DC, Istituto Nazionale di Riferimento per la Protezione delle piante

Nel dicembre 2019 è entrato in vigore il nuovo regime fitosanitario definito dal Reg. (UE) 2016/2031 che stabilisce norme per determinare i rischi fitosanitari e le misure per ridurli a un livello accettabile. Successivamente la Commissione Europea con il Reg. (UE) 2017/625 ha introdotto un unico si-

stema dei controlli per la salute umana, animale e delle piante (approccio One Health). A livello nazionale, il D.Lgs. n. 19 del 2 febbraio 2021 ha istituito la Rete nazionale dei laboratori che individua i laboratori ufficiali nonché gli altri laboratori designati che operano per il raggiungimento degli obiettivi fissati dal nuovo quadro normativo. Con il più recente D.M. n. 169819 del 13 aprile 2022 sono state, inoltre, definite le caratteristiche, ambiti di competenza, strutture e modalità di riconoscimento di tali laboratori e, più in generale, dei laboratori operanti nell'ambito della protezione delle piante. In tale contesto, grande importanza viene attribuita alla diagnostica, in particolare, attraverso la definizione dei ruoli dei Laboratori di Riferimento Europei e Nazionali e, come novità assoluta, l'obbligo di operare in regime di accreditamento EN ISO/IEC 17025 per quei laboratori che effettuano analisi nell'ambito di controlli ufficiali. Il presente contributo illustra la struttura e il ruolo della Rete nazionale dei laboratori evidenziandone le potenzialità ai fini della sorveglianza del territorio con particolare riferimento alla riemergente problematica della Flavescenza dorata (FD) della vite.

«The role of the National Laboratory Network in optimizing and harmonizing the diagnosis of FD and other grapevine yellows»

In December 2019, the new phytosanitary regime defined by Regulation (EU) 2016/2031 came into force, establishing rules for determining phytosanitary risks and measures to reduce them to an acceptable level. In addition, the Commission with Regulation (EU) 2017/625 has introduced a single system of controls for human, animal, and plant health (One Health approach). At national level, the Legislative Decree n.19 on 2021/02/02 establishes the national laboratory network, which identifies official laboratories as well as other designed ones that operate to achieve the objectives of the new regulatory framework. Moreover, the latest Ministerial Decree n.169819 on 2022/04/13 defines the characteristics, areas of competence, structures and modality of identification of these laboratories and, more generally, of laboratories operating in the field of plant protection. In this context, great importance is given to diagnostics, in particular by defining the roles of European and National Reference Laboratories and, as an absolute novelty, the obligation to operate under the EN ISO/IEC 17025 accreditation system for those laboratories that carry out analyses within the official controls. This contribution illustrates the structure and role of the national laboratory network highlighting the potentiality for the surveillance of territory with particular regard to the re-emerging problem of grapevine flavescence dorée (FD).