



UNIVERSITÀ
di **VERONA**



Indagini spazio-temporali dei ceppi del fitoplasma di FD su vite

LUISA FILIPPIN

CREA-VE Centro di Ricerca Viticoltura ed Enologia
Conegliano (TV)



REGIONE DEL VENETO

VENETO 
AGRICOLTURA 

FD.NEW: cause associate alle nuove epidemie di Flavescenza dorata in Veneto

WP1: analisi delle strategie di difesa insetticida adottate nei vigneti con recrudescenza di FD

WP2: genotipizzazione geografica (Veneto) e temporale (2000-2020) del fitoplasma di FD

WP3: identificazione del rischio di infezione causato da nuovi potenziali vettori

WP4: identificazione del rischio di infezione causato dalla vegetazione spontanea locale



c'è un diverso ceppo di fitoplasma che è la (con)causa della nuova recrudescenza di FD?



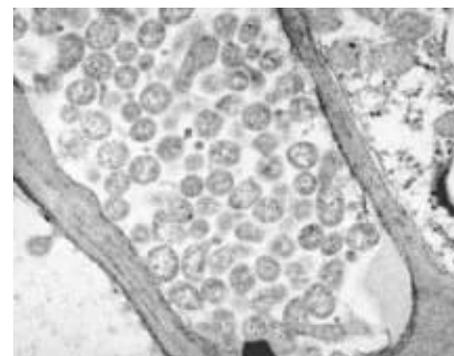
REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
di VERONA



I FITOPLASMI



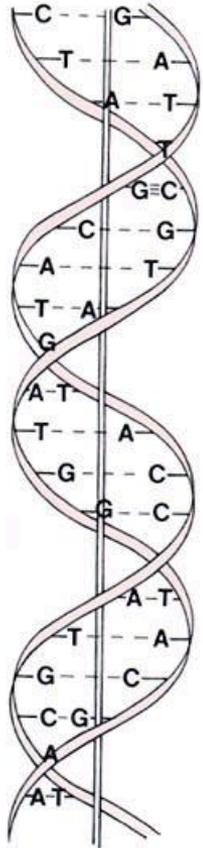
- I fitoplasmi sono piccoli batteri, privi di parete cellulare, che vivono all'interno delle piante, nel floema, o di alcuni tipi di insetti, nelle ghiandole salivari.
- Sono parassiti obbligati e quindi non possono vivere liberi nell'ambiente, non sono trasmissibili per via meccanica e nemmeno coltivabili *in vitro*
- Possono essere patogeni di molte specie vegetali in tutto il mondo, e vengono trasmessi da una pianta all'altra attraverso la nutrizione di insetti vettori.



CLASSIFICAZIONE DEI FITOPLASMI: 16SrDNA

Gene per l' RNA ribosomale
16S

- “specie” definite sulla base della sequenza del gene *16SrDNA*, molto conservato nei batteri perché è fondamentale per la loro sopravvivenza.
- Finora descritte 50 specie, indentificate storicamente da un numero romano che indica il tipo di gene 16Sr (p.e. «16SrI») e dallo status di *Candidatus* Phytoplasma



I FITOPLASMI DELLA VITE

Specie	gruppo 16Sr	Specie	gruppo 16Sr
<i>Ca. P. asteris</i>	I	<i>Ca. P. luffae</i>	VIII
<i>Ca. P. japonicum</i>	I	<i>Ca. P. phoenicium</i>	IX
<i>Ca. P. aurantifolia</i>	II	<i>Ca. P. mali</i>	X
<i>Ca. P. pruni</i>	III	<i>Ca. P. pyri</i>	X
<i>Ca. P. palmae</i>	IV	<i>Ca. P. prunorum</i>	X
<i>Ca. P. cocostanzinae</i>	IV	<i>Ca. P. rhamni</i>	X
<i>Ca. P. cocosnigeriae</i>	IV	<i>Ca. P. allocasuarinae</i>	X
<i>Ca. P. castanae</i>	IV	<i>Ca. P. oryzae</i>	XI
<i>Ca. P. ulmi</i>	V	<i>Ca. P. solani</i>	XII
<i>Ca. P. ziziphi</i>	V	<i>Ca. P. australiense</i>	XII
<i>Ca. P. vitis</i>	V	senza nome	XIII
<i>Ca. P. trifolii</i>	VI	<i>Ca. P. brasiliense</i>	XV
<i>Ca. P. fraxinii</i>	VII



I FITOPLASMI DELLA VITE IN EUROPA

Specie	gruppo 16Sr	Specie	gruppo 16Sr
Ca. P. asteris	I	Ca. P. ...	
Ca. P. japonicum	I		
Ca. P. ulmi	V	Ca. P. allocasuariae	
Ca. P. ziziphi	V	Ca. P. oryzae	XI
Ca. P. vitis	V	Ca. P. solani	XII
Ca. P. trifolii	VI	Ca. P. australiense	XII
Ca. P. fraxinii	VII	senza nome	XIII
		Ca. P. brasiliense	XV
	

Flavescenza dorata (FD):
FD-D e FD-C

Legno nero (LN)



CARATTERIZZAZIONE DEI FITOPLASMI

PRIMO LIVELLO:

sfruttando differenze sul gene **16SrDNA** identfico dei sottogruppi

Fitoplasmi della FD: sottogruppi **16SrV-C** → FD-C e **16SrV-D** → FD-D

ULTERIORI LIVELLI:

per distinguere fitoplasmi della stessa specie, si indagano geni meno conservati, che hanno maggiore variabilità e permettono di entrare più in dettaglio (*rp*, *secY*, *tuf*, *map*, *imp*)

caratterizzazione fine si usa per:

COMPRENDERE L'ECOLOGIA DEI FITOPLASMI
TRACCIABILITA' DI NUOVE EPIDEMIE

Studi di variabilità genica dei fitoplasmi associati alla FD con *gene map*



agronomy



Article

Genetic Diversity of Flavescence Dorée Phytoplasmas in Vineyards of Serbia: From the Widespread Occurrence of Autochthonous Map-M51 to the Emergence of Endemic Map-FD2 (Vectotype II) and New Map-FD3 (Vectotype III) Epidemic Genotypes

Oliver Krstić¹, Tatjana Cvrković¹, Slavica Marinković¹, Miljana Jakovljević¹, Milana Mitrović¹, Ivo Toševski^{1,2,*} and Jelena Jović^{1,*}

Serbia; VITI, SPONTANEE



Plant Pathology (2019) 68, 18–30

Doi: 10.1111/ppa.12934

Multilocus sequence typing reveals the presence of three distinct flavescence dorée phytoplasma genetic clusters in Croatian vineyards

J. Plavec^a, Ž. Budinščak^a, I. Križanac^a, D. Škorić^b, X. Foissac^c and M. Šeruga Musić^{b,*}

^aInstitute for Plant Protection, CCAFFRA, Gorice 68b; ^bDepartment of Biology, University of Zagreb, Faculty of Science, Marulićev trg 9a, 10000 Zagreb, Croatia; and ^cUMR 1332 Biologie du Fruit et Pathologie, INRA, Université de Bordeaux, 71 avenue Edouard Bourloux, CS 20032, F-33882 Villenave d'Ornon, France

Croazia; VITI, INSETTI, SPONTANEE

PLOS PATHOGENS

RESEARCH ARTICLE

When a Palearctic bacterium meets a Nearctic insect vector: Genetic and ecological insights into the emergence of the grapevine Flavescence dorée epidemics in Europe

Sylvie Malembic-Maher^{1*}, Delphine Desque^{1*}, Dima Khalil¹, Pascal Salar¹, Bernard Bergey¹, Jean-Luc Danet¹, Sybille Duret¹, Marie-Pierre Dubrana-Ouabah¹, Laure Beven¹, Ibolya Ember², Zoltan Acs², Michele Della Bartola³, Alberto Materazzi⁴, Luisa Filippin⁴, Slobodan Krnjajic⁵, Oliver Krstić⁶, Ivo Toševski^{6,7}, Friederike Lang⁸, Barbara Jarausch⁸, Maria Kölber⁹, Jelena Jović⁶, Elisa Angelini⁶, Nathalie Arricau-Bouvery⁶, Michael Maixner⁶, Xavier Foissac^{1*}



Francia, Germania, Italia, Ungheria, Croazia; VITI, INSETTI, SPONTANEE

Received: 6 May 2021 | Revised: 12 August 2021 | Accepted: 16 August 2021

DOI: 10.1111/jen.12933

ORIGINAL ARTICLE

JOURNAL OF APPLIED ENTOMOLOGY WILEY

Alnus glutinosa and *Orientalis ishidae* (Matsumura, 1902) share phytoplasma genotypes linked to the 'Flavescence dorée' epidemics

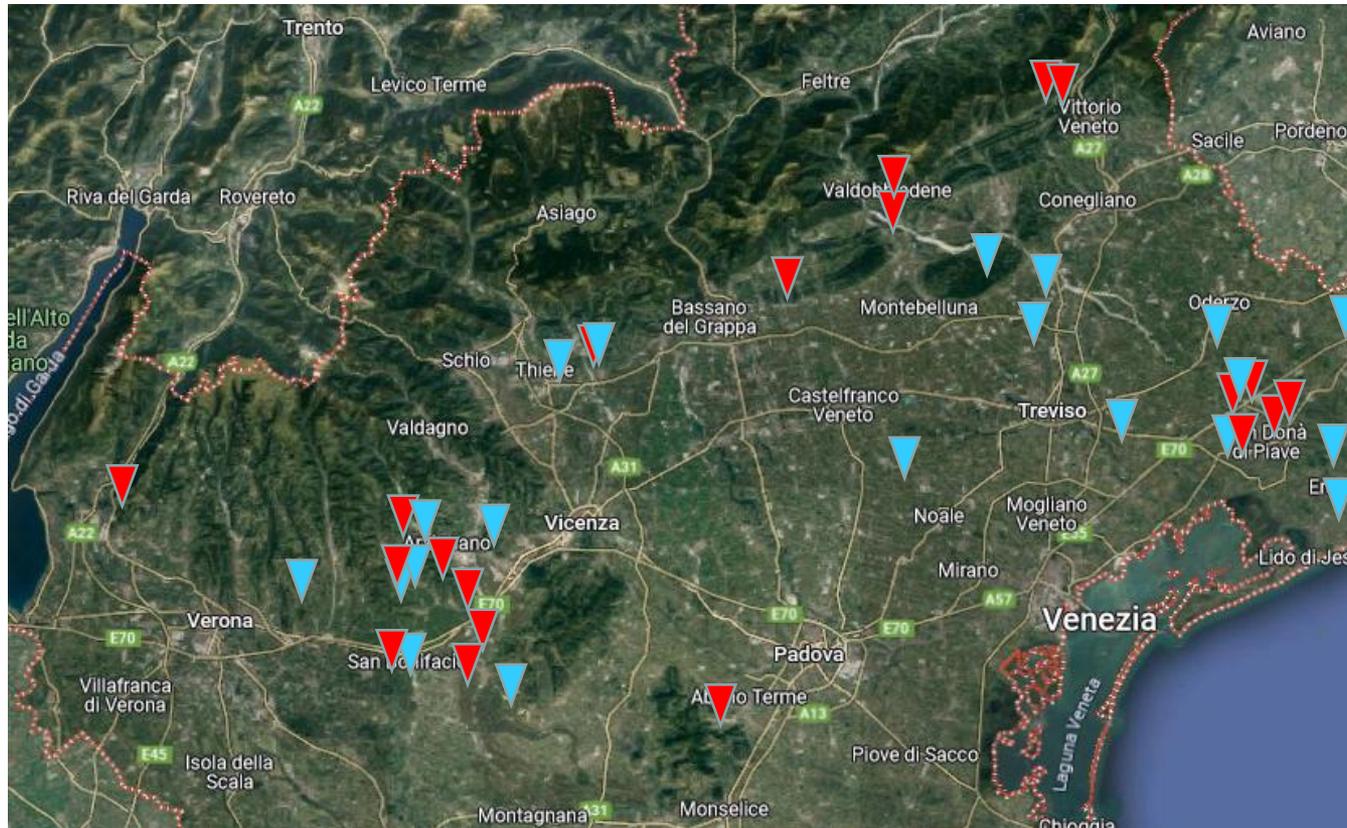
Attilio Rizzoli¹ | Elena Belgeri^{2,3} | Mauro Jermini² | Marco Conedera¹ | Luisa Filippin³ | Elisa Angelini³

Ticino (CH); VITI, INSETTI, SPONTANEE

Molti dati disponibili perché usato da diversi gruppi di ricerca per caratterizzare i fitoplasmi di FD in studi epidemiologici come FD.NEW

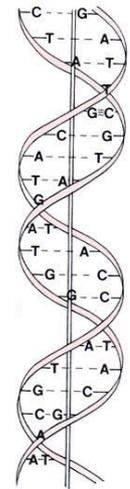
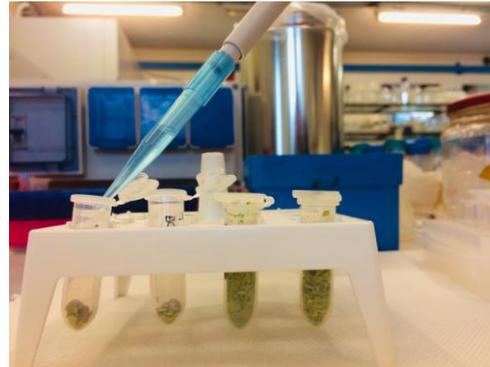
ATTIVITA'

1. Individuati 20 **vigneti epidemici** e 20 **vigneti non epidemici** areali vitati del Veronese, Vicentino/padovano, Trevignano e Veneziano
2. Raccolta di 1-3 viti sintomatiche per vigneto, rappresentative dell'infezione
3. Genotipizzazione dei geni **16SrDNA** e **map**
4. Confronto con stessi geni di 14 campioni "storici" (1999-2003)



ANALISI MOLECOLARI

1. Estrazione del DNA totale



REGIONE DEL VENETO



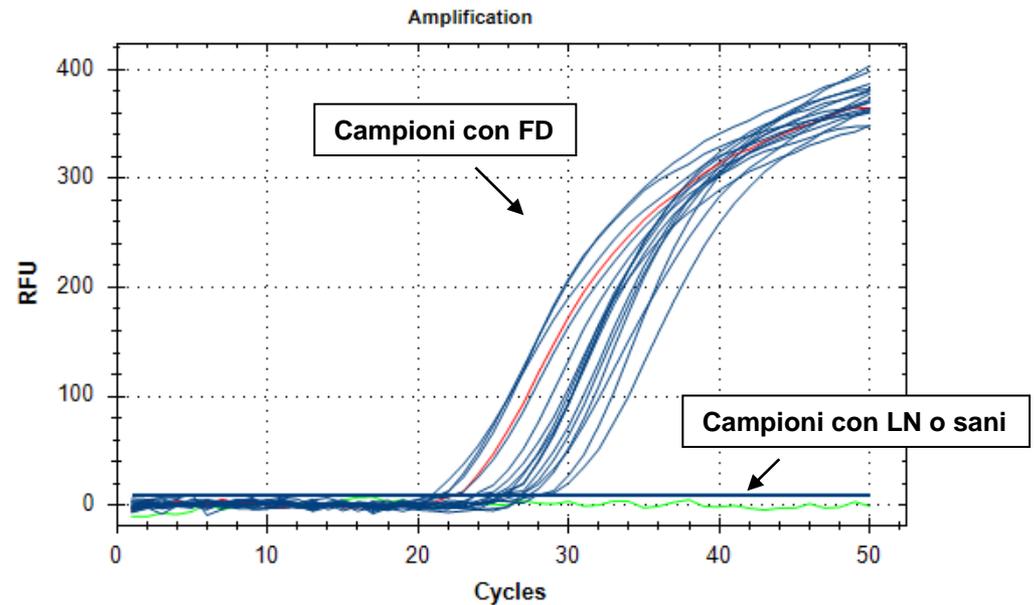
UNIVERSITÀ
di VERONA



VENETO
AGRICOLTURA

ANALISI MOLECOLARI

2. Screening FD/LN con amplificazione del fitoplasma con PCR *real time*



REGIONE DEL VENETO



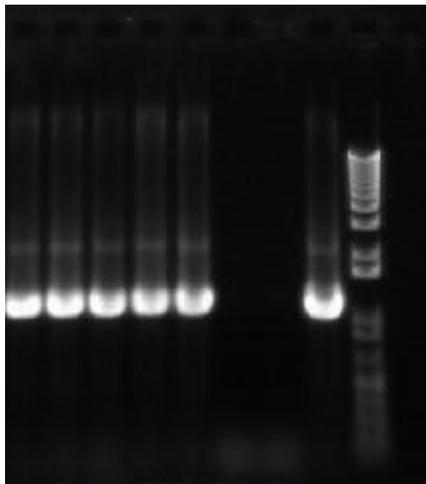
UNIVERSITÀ
di VERONA



VENETO
AGRICOLTURA

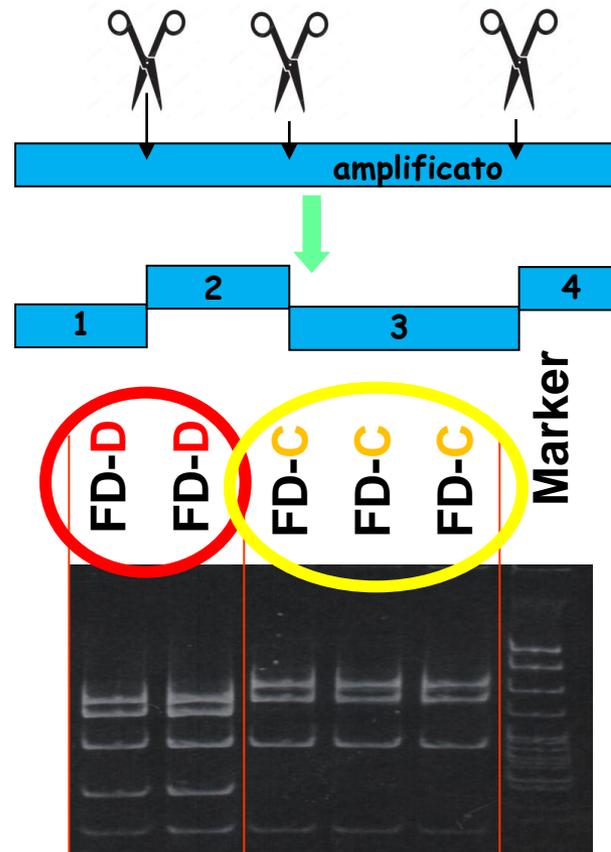
Caratterizzazione gene *16SrDNA*

A. Amplificazione (PCR)



+ enzima *Taq I*

B. Taglio amplificati (RFLP)



REGIONE DEL VENETO



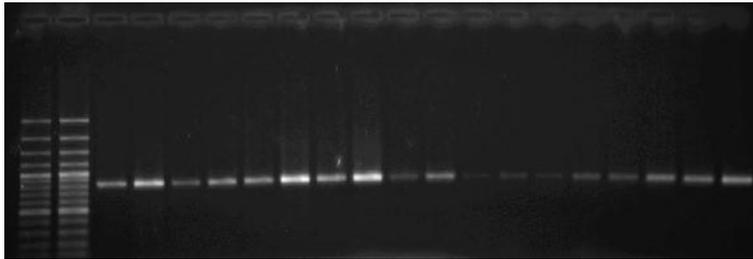
UNIVERSITÀ
di VERONA



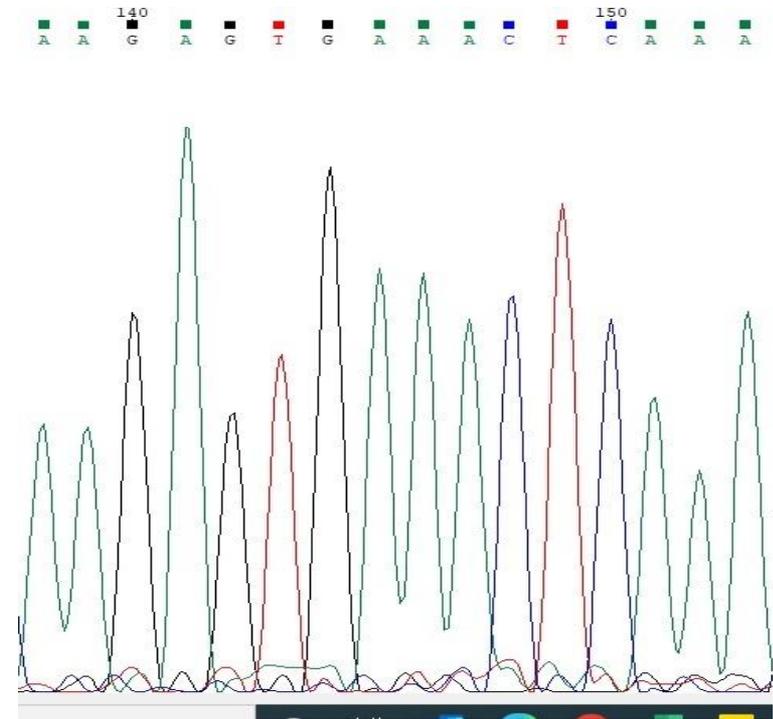
VENETO
AGRICOLTURA

Caratterizzazione gene map

A. Amplificazione (PCR)



B. Sequenziamento nucleotidico



REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
di VERONA



VENETO
AGRICOLTURA

RISULTATI – Vigneti epidemici vs non epidemici

VERON A	Località	Varietà	16SrV	MAP	VICENZ A	Località	Varietà	16SrV	MAP
ALTA	San Bonifacio	Pinot grigio	FD-D	M54	ALTA	Breganze	Pinot grigio	FD-D	M54
	San Giovanni Ilarione	Durella	FD-D	M54		Montebello Vicentino	Pinot bianco	FD-D	M54
	Rivoli Veronese	Pinot grigio	FD-D	M54		Sarego	Chardonnay	FD-D	M54
	Montecchia di Crosara	Garganega	FD-D	M54		Lonigo	Garganega	FD-D	M54
	Roncà	Garganega	FD-D	M54		Galzignano terme	Pinot grigio	FD-D	M54
BASSA	San Bonifacio	bianca	FD-D	M54	BASSA	Breganze	bianca	FD-D	M54
	Montecchia di Crosara	Garganega	FD-D	M54		Sarcedo	rossa	FD-D	M54
	Montebello Vicentino	bianca	FD-D	M54		Montebello Vicentino	Pinot grigio	FD-D	M54
	San Brizio	Vespaiola	FD-D	M54		Montebelluna	Pinot grigio	FD-D	M54
	Brentonico	Glera	FD-D	M54		Montebelluna	Glera	FD-D	M54

M54: sempre ritrovato in FD-D, in tutta Europa
M3: ritrovato in vite solo in Veneto

TREVIS O	Località	Varietà	16SrV	MAP	TREVIS O	Località	Varietà	16SrV	MAP
ALTA	Valdobbiadene	Pinot grigio	FD-D	M54	ALTA	San Donà di Piave	Pinot grigio	FD-D	M54
	Vidor	Glera	FD-D	M54		Musile di Piave	Pinot grigio	FD-D	M54
	Revine	Chardonnay	FD-D	M54		San Donà di Piave	bianca	FD-D	M54
	Revine	Chardonnay	FD-C	M3		Noventa di Piave	Pinot grigio	FD-D	M54
	Maser	Glera	FD-D	M54		Noventa di Piave	Verduzzo	FD-D	M54
BASSA	Salgareda	Pinot grigio	FD-C	M3	BASSA	Musile di Piave	Pinot grigio	FD-D	M54
	Giavera	Glera	FD-D	M54		Ceggia	Pinot grigio	FD-D	M54
	Villorba	Cabernet	FD-D	M54		Torre di Mosto	Glera	FD-D	M54
	Arcade	Raboso	FD-D	M54		Noventa di Piave	Chardonnay	FD-D	M54
	Roncade	Glera	FD-D	M54		Lison di Pramaggiore	Glera	FD-D	M54

Non c'è differenza di ceppi tra vigneti epidemici e non



REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ di VERONA



RISULTATI – passato vs presente

ANNO	Località	16SrV	MAP
1999	Valdobbiadene (TV)	FD-C	M3
1999	Spresiano (TV)	FD-C	M3
1999	Portogruaro (VE)	FD-C	M3
2000	Breganze (VI)	FD-C	M3
2000	Montebelluna (TV)	FD-C	M3
2000	Mogliano (TV)	FD-C	M3
2001	Vittorio Veneto (TV)	FD-C	M3



REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
di VERONA



VENETO
AGRICOLTURA

RISULTATI – passato vs presente

ANNO	Località	16SrV	MAP
1999	Villorba (TV)	FD-D	M54
1999	Salgareda (TV)	FD-D	M54
1999	Valdobbiadene (TV)	FD-D	M54
2000	Lonigo (VI)	FD-D	M54
2000	Soave (VR)	FD-D	M54
2001	Martellago (VE)	FD-D	M54
2003	Teolo (PD)	FD-D	M54



REGIONE DEL VENETO

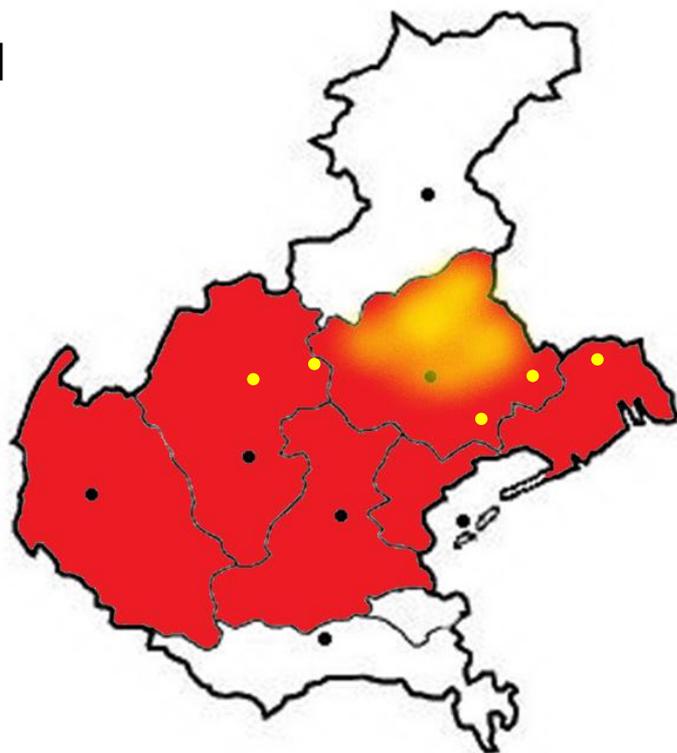


UNIVERSITÀ
di VERONA



RISULTATI – passato vs presente

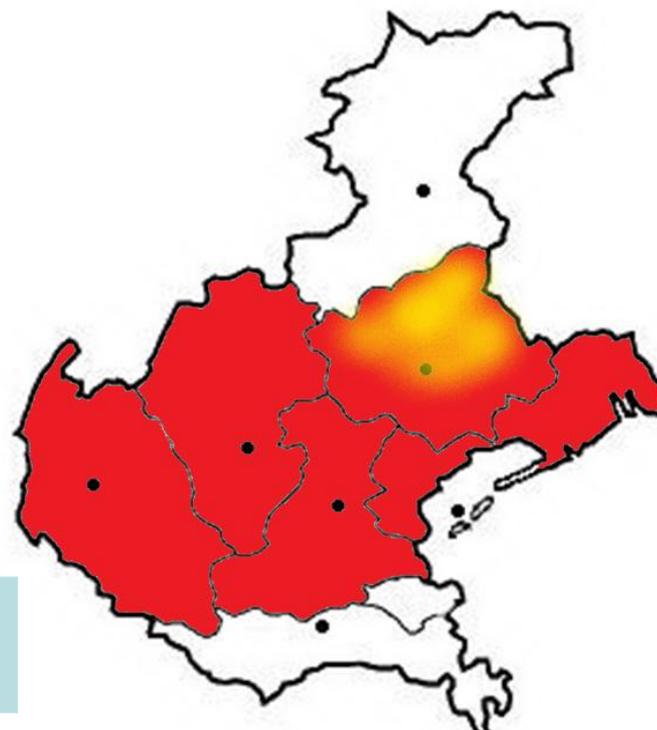
2001



FD-D ceppo
M54

FD-C ceppo M3

2021



- ceppi associati alle infezioni sono gli stessi
- distribuzione **FD-C/M3** sembra un po' ristretta



REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
di VERONA



VENETO
AGRICOLTURA

CONCLUSIONI

- Nei 40 vigneti analizzati ritrovati due tipi di fitoplasmi della FD:
FD-D/M54 e FD-C/M3
- FD-D/M54 molto più diffuso di FD-C/M3 (solo in provincia di Treviso)
- **NON** sono state riscontrate differenze geniche in fitoplasmi isolati da viti di vigneti epidemici o non epidemici
- **NON** sono risultate differenze geniche rispetto ai fitoplasmi isolati da viti infette nel 1999-2003



REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
di VERONA



VENETO
AGRICOLTURA

RINGRAZIAMENTI



UNIVERSITÀ
di VERONA

Università di Verona

Dipartimento di Biotecnologie

- Nicola Mori
- Enea Guerrieri
- Mattia Burati
- Marika Pavasini



CREA Centro di Ricerca
per la Viticoltura e l'Enologia

- Elisa Angelini
- Vally Forte
- Elena Belgeri
- Marzia Signorotto

Tecnici viticoli

- Walter Biasi
- Oddino Bin
- Sergio Carraro
- Remigio Cescon
- Angelo Fanton
- Davide Granzotto
- Patrizio Gasparinetti
- Lisa Stringher
- Michele Zanchetto

Aziende viticole

TUTTI VOI PER L'ATTENZIONE



FINE

SALUTI E INTERVENTI INTRODUTTIVI

Federico Caner - Assessore all'Agricoltura, Regione del Veneto

Lucio Della Bianca, Sergio Carraro - U.O. Fitosanitario, Regione del Veneto

Paola Gotta - Settore fitosanitario e servizi tecnico-scientifici Regione Piemonte

RELAZIONI

Analisi delle strategie insetticide adottate nei vigneti con recrudescenza di Flavescenza dorata

Enea Guerrieri - Università di Verona

Indagini spazio-temporali dei ceppi del fitoplasma di Flavescenza dorata su vite

Luisa Filippin - CREA Viticoltura ed Enologia

Ecologia e presenza del fitoplasma in vettori noti e potenziali della malattia

Nicola Mori - Università di Verona

Identificazione del fitoplasma di Flavescenza dorata nella vegetazione dell'agroecosistema vigneto

Elisa Angelini - CREA Viticoltura ed Enologia

Il quadro epidemiologico della Flavescenza dorata in Veneto

Vally Forte - CREA Viticoltura ed Enologia

Moderatore

Stefano Boncompagni - Settore fitosanitario e difesa delle produzioni Regione Emilia-Romagna

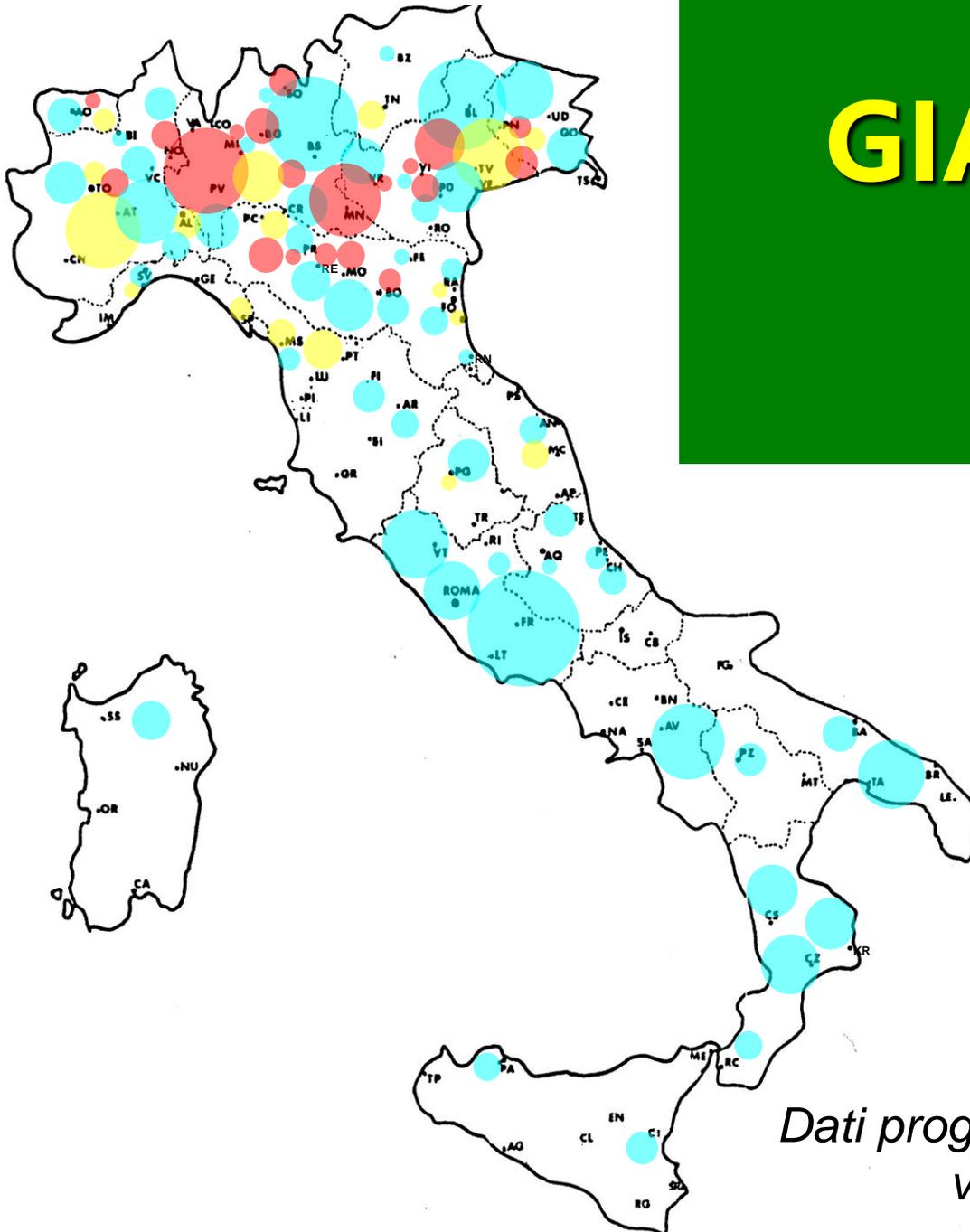
17.30 - Conclusione dei lavori

In occasione dell'incontro verrà presentato l'APP per il monitoraggio informatizzato di *Scaphoideus titanus* e dei Giallumi

a cura di Luca Toninato - Enogis srl e Luana Marcon - Extenda Vitis

Il Progetto di Ricerca FD.NEW 2021-2022 "Cause associate alle nuove epidemie di Flavescenza Dorata in Veneto" è stato realizzato in attuazione della DGR del Veneto n. 1735 del 15.12.2020.

GIALLUMI IN ITALIA



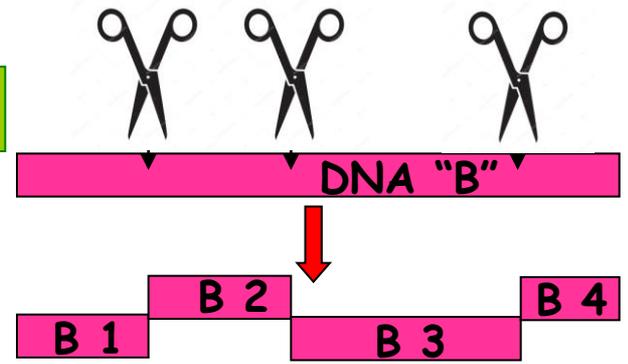
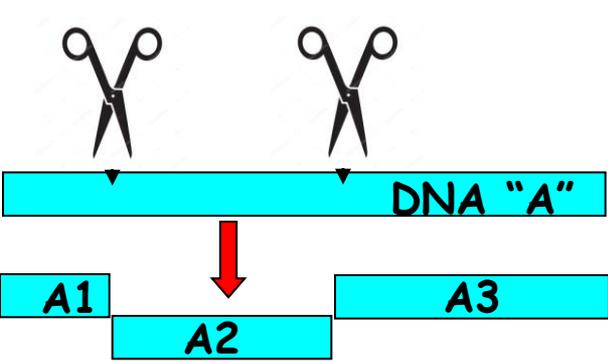
Dati progetto nazionale sui giallumi delle vite GIA.VI. (2004-2007)

Caratterizzazione gene 16SrDNA

2. Amplificazione (PCR)



3. RFLP



FITOPLASMI DELLA VITE NEL MONDO

