

Progetto INTEFLAVI: recenti acquisizioni sul ruolo degli incolti nell'epidemiologia della Flavescenza dorata in Piemonte

Cristina Marzachi¹ e Domenico Bosco^{1,2}

¹: Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante-CNR, Torino

²: Università degli Studi di Torino

Moncalvo (AT), 21 ottobre 2016

1998 – prima segnalazione di FD in Piemonte



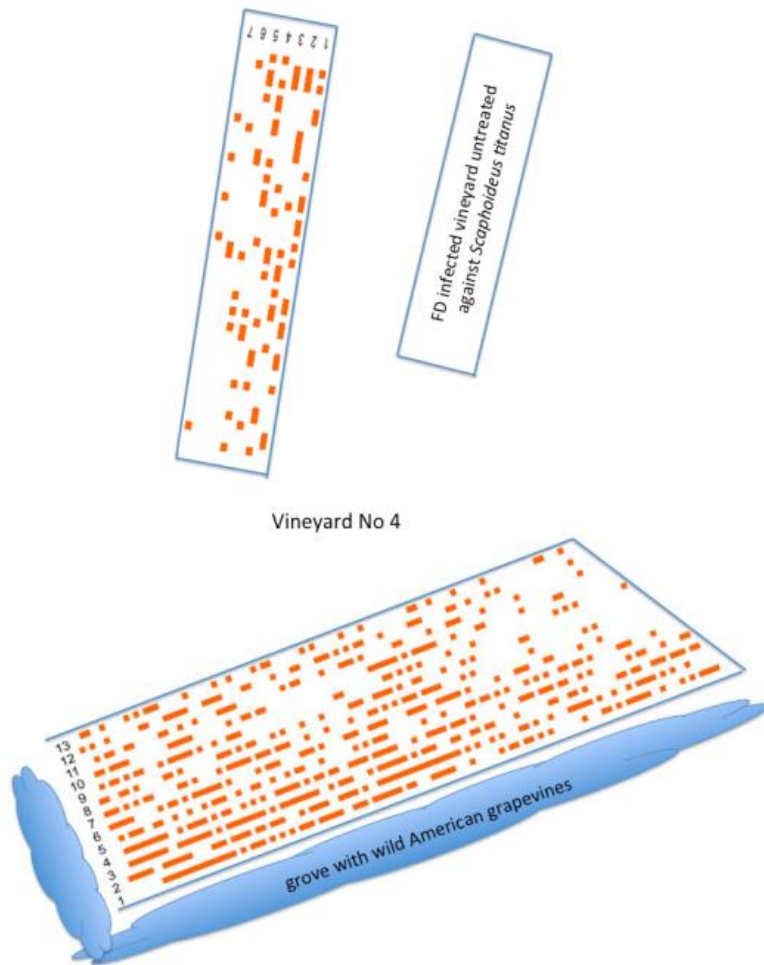
Infezioni secondarie, da vite a vite, erano prevalenti nella prima fase dell'epidemia. Negli anni successivi esse sono state fortemente ridotte dai trattamenti insetticidi obbligatori che hanno soppresso la popolazione di *Scaphoideus titanus* all'interno dei vigneti

In anni più recenti abbiamo assistito a recidive e diffuse re-infezioni probabilmente dovute a infezioni primarie associate a cicaline infette provenienti dal comparto selvatico

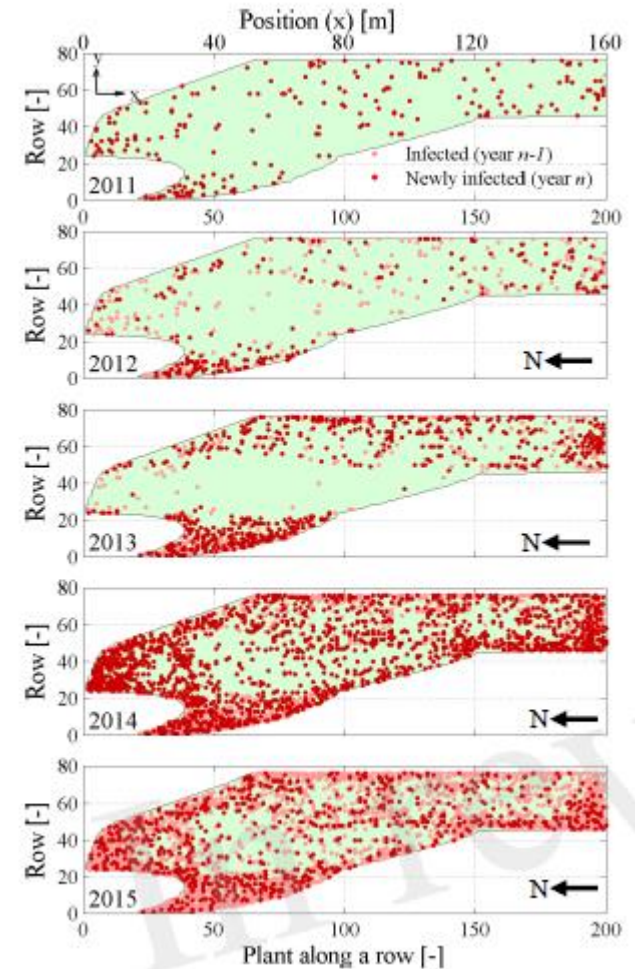


Il ruolo degli incolti è stato già evidenziato:

Pavan et al. (2012) evidenziavano gradienti di infezione a partire dai bordi dei vigneti a contatto col compartimento selvatico



Maggi et al. (2016) evidenziavano un gradiente di nuove infezioni a partire dai bordi del vigneto



Lessio et al. (2007) e Forte et al. (2009) hanno evidenziato catture di adulti di *S. titanus* notevolmente più elevate nel comparto selvatico rispetto a quello coltivato

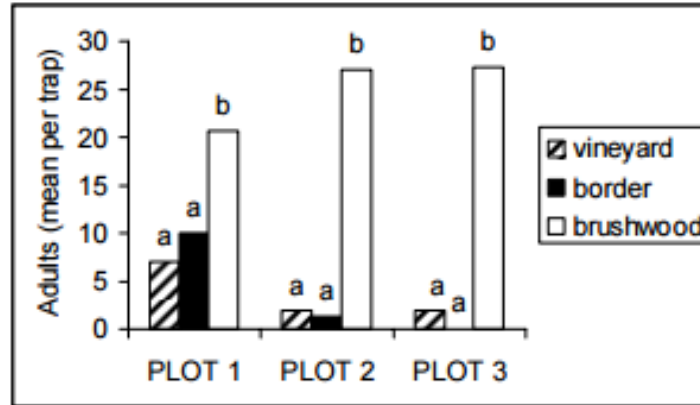


Figure 1. Captured *S. titanus* adults inside and on the border of vineyards, and in surrounding brushwood areas with AGV. Different letters indicate significant differences between captures (ANOVA, $P < 0.05$).

Table 2. Number of *S. titanus* nymph specimens counted per 300 leaves (July) and number of adult specimens counted per trap (August and September), captured on wild rootstocks and on the cultivated vineyards beside.

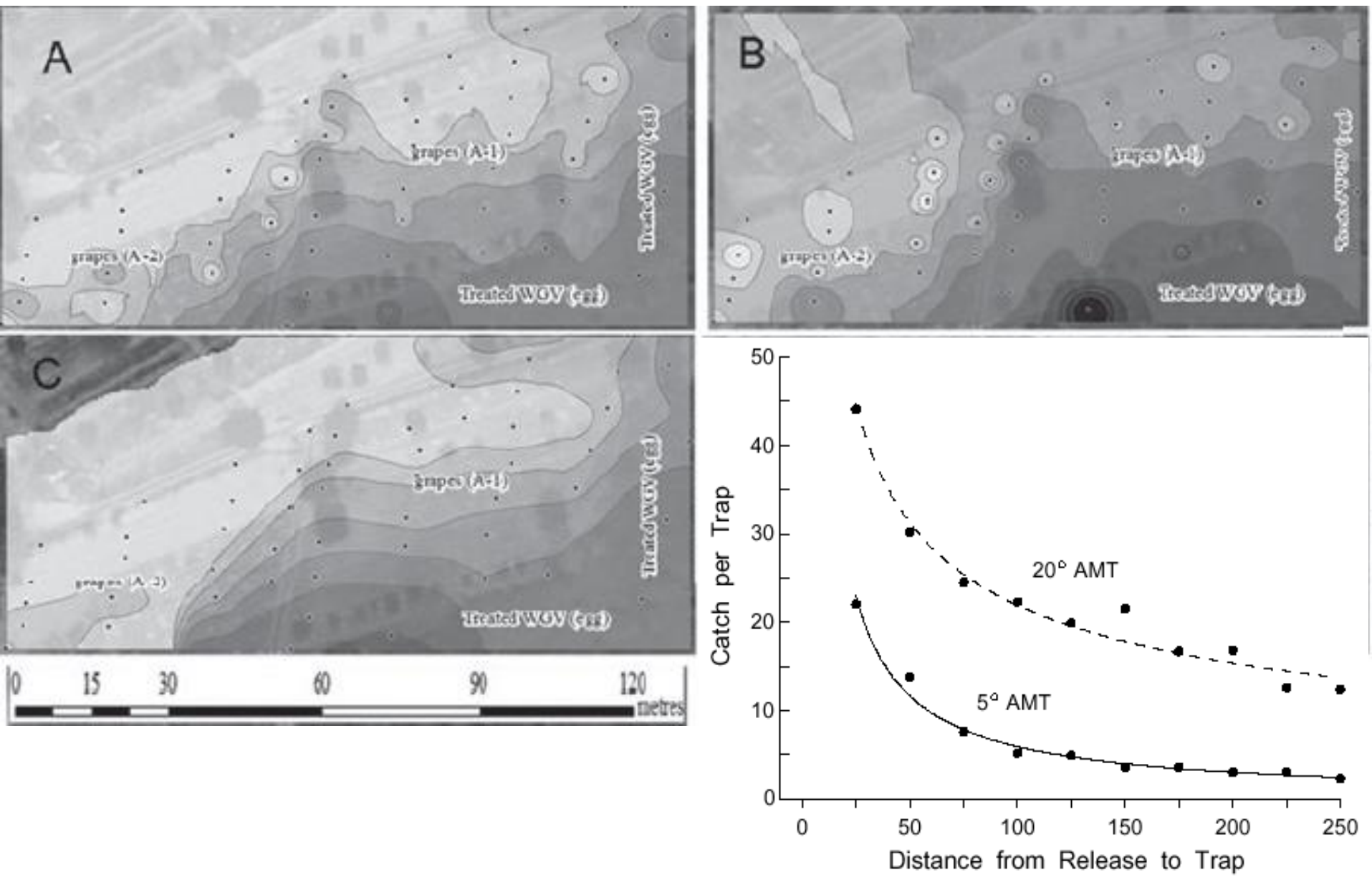
	Nymphs – 5 July		25 July - 5 August		5-18 August		18 August - 1 September		1-16 September	
	Wild rootstocks	Cultivated vineyard	Wild rootstocks	Cultivated vineyard	Wild rootstocks	Cultivated vineyard	Wild rootstocks	Cultivated vineyard	Wild rootstocks	Cultivated vineyard
plot 1	28	0	32,5	3,0	16,0	1,5	17,3	6,0	13,2	11,0
plot 2	9	0	13,3	7,0	6,0	3,5	5,7	2,5	0,7	2,0
plot 3	0	0	1,5	1,5	1,7	2,0	1,0	1,7	0,2	0,5
plot 4	5	0	9,0	5,5	6,5	2,5	9,5	3,0	0,0	0,0

I portinnesti americani che originano le viti inselvatichite sono suscettibili a FD (Eveillard et al., 2012) e sono stati ripetutamente trovati infetti in natura

Experiment	Accession	% of insect survival	Nb of infected plants/total inoculated	Symptom appearance at wpi	Mean phytoplasma titre in nb of cells/ μ g nucleic acids \pm SE (CS*/accession ratio)		
					3 wpi	5 wpi	10 wpi
1	CS	86	13/14	6	$5 \times 10^3 \pm 3.6 \times 10^3$	$7.4 \times 10^4 \pm 4.1 \times 10^4$	$7.1 \times 10^3 \pm 5.8 \times 10^3$
	Merlot	62	9/14	-	$1.8 \times 10^2 \pm 1.7 \times 10^2$ (27)	$4.2 \times 10^2 \pm 4.7 \times 10^2$ (175)	7×10^1 (100)
2	CS	69	14/15	6	$2.5 \times 10^4 \pm 1.6 \times 10^4$	$6.2 \times 10^4 \pm 1.3 \times 10^4$	$1.6 \times 10^5 \pm 7.1 \times 10^4$
	3309	96	15/15	-	$1.5 \times 10^3 \pm 1 \times 10^3$ (17)	$2 \times 10^4 \pm 1.5 \times 10^4$ (3)	$4.5 \times 10^4 \pm 3.1 \times 10^4$ (3)
	RGM	76	12/14	-	$2.2 \times 10^3 \pm 1.8 \times 10^2$ (115)	$5.6 \times 10^3 \pm 3.9 \times 10^3$ (11)	$3.8 \times 10^4 \pm 2.6 \times 10^4$ (4)
	SO4	84	12/15	-	$9.1 \times 10^2 \pm 7.4 \times 10^2$ (27)	$1.4 \times 10^4 \pm 2.4 \times 10^4$ (4)	$7.9 \times 10^3 \pm 6.3 \times 10^3$ (20)
3	CS	83	11/15	6	$2.9 \times 10^4 \pm 3.9 \times 10^4$	$1.1 \times 10^5 \pm 1.2 \times 10^5$	$1.8 \times 10^5 \pm 4.7 \times 10^4$
	Chardon.	83	14/15	7	$7.4 \times 10^3 \pm 7.9 \times 10^3$ (4)	$6.1 \times 10^4 \pm 9.1 \times 10^4$ (2)	$6.2 \times 10^4 \pm 7 \times 10^4$ (3)
	Pinot N	73	10/15	7	$6.9 \times 10^2 \pm 3.7 \times 10^2$ (42)	$1.1 \times 10^4 \pm 1.9 \times 10^4$ (10)	$3.6 \times 10^4 \pm 4.6 \times 10^4$ (5)
	41B	91	11/14	-	$1 \times 10^3 \pm 7.9 \times 10^2$ (28)	$6 \times 10^3 \pm 6 \times 10^3$ (18)	$6.1 \times 10^3 \pm 8.2 \times 10^3$ (30)
	5BB	81	11/16	-	$3.9 \times 10^2 \pm 2.2 \times 10^2$ (74)	$3.4 \times 10^3 \pm 2.7 \times 10^3$ (32)	$2.9 \times 10^2 \pm 2 \times 10^2$ (625)
	Nemadex	41	0/15	-	-	-	-

* CS values from the same experiment were taken as a reference; wpi : weeks post-inoculation; -: no symptoms or no ratio.

La capacità di dispersione di *S. titanus* dagli incolti al vigneto è stata documentata (Lessio et al. 2014)





L'obiettivo di un working package del progetto INTEFLAVI è di analizzare la compatibilità, attraverso una caratterizzazione genetica fine del fitoplasma, delle popolazioni di FD nel comparto selvatico (viti inselvaticate, clematidi, *S. titanus*) e nel comparto coltivato (viti coltivate, *S. titanus*)

Google



Selezione dei geni bersaglio per l'analisi

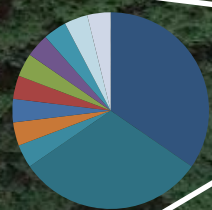
Locus code	Gene name	Gene product name	Gene product	primers		Gene length (bp)	Amplified fragment length (bp)	MLST fragment size (bp)
				name	sequence			
flado_0031_0007	dnaK	chaperone protein DnaK	625	DnaK_F DnaK_R	F TTAGCGGGAGGAACTTTCGAC R AAGCTCCCATCGCAACTACT	1875	559	492
flado_8084_0020	malG	probable ABC trnsporter, permease component	304	MalG_F MalG_R	F GCTTTCGAGGCCAATTC R ATTTCTGGCCAAGCATAAGCG	912	496	373
flado_0482_0026	vmpA	Variable membrane protein A	381	VmpA_F VmpA_R	F TAAATTAATATGTAGAAG R TCTTGTAATCTTATAACTAAC	1143	1440	678/1380
flado_7716_0002	htmp1	unknown	132	1HTMP_F 1HTMP_R	F TGACTATTTATGAGGTTTTGG R CCGATAAAGCAAATTAACCA	396	500	-
flado_5389_0008	htmp2	unknown	262	2HTMP_F 2HTMP_R	F TGCATCTGATGAAAAAGAAA R TGTTTATTACGCCAGTCATT	786	476	453
flado_0234_0017	htmp3	unknown	197	3HTMP_F 3HTMP_R	F TTTTAAAGAAGTGCTTTTTG R TCAACAAAATCAACAAGAAA	591	475	-
flado_0234_0004	htmp4	unknown	325	4HTMP_F 4HTMP_R	F TCCGATAGAAAATACGGAAA R GCTCTGGCAAGGTTAATA	975	535	468
flado_0314_0000767	htmp5	unknown	383	HTMP5_F HTMP5_R	F AAAACAAGAAGAAACGCAAAA R CCAAGATTCTCTAAACATTTAA	1149	376	/
flado_0031_0004	lolD	probable ABC transporter ATP-binding component	566	LolD_F LolD_R	F AAAATTATCCAAGAAAGAACGA R TTCTAAAATAGGGTGCCAATT	1698	760	645
flado_6333_0007	glyA	serine hydroxymethyltransferase	420	GlyA_F GlyA_R	F ATTGCTGGATTAATTGTGTC R CATTGCTGGAGTTCTATTTC	1260	501	435
flado_4539_0003	hsdR	Hypothetical type I site-specific deoxyribonuclease	1039	HsdR_F HsdR_R	F AGAAATAGCTCCTACACCAG R ATTCATTGCTTTGGCTTGA	3119	910	-
flado_0314_0026	hflB	ATP dependent zinc membrane protease FtsH2	595	HflB_For HflB_R	F ACCTACCATTCTTTATTGCT R TCC AAC GAT AAT AAT TCC TTT ATC TGA AG	1788	-	-
flado_0426_0012	imp	Conserved hypothetical protein IMP	156	Imp_F Imp_R	F TCAAGTTGGTTCAGTTATTGGTG R TCATGAAAACATAGACATCGT	471	744	555

Polimorfismo dei geni selezionati

Gene	Genotipi (n)
<i>dnaK</i>	3
<i>malG</i>	99
<i>VmpA</i>	17

Cisterna d'Asti

ST_OUT

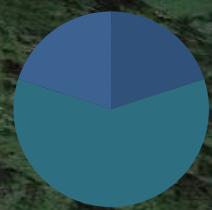


ST_OUT

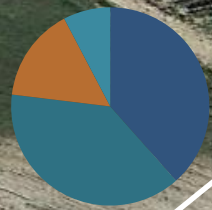


■ Infetti
■ Non Infetti

WG



ST_IN

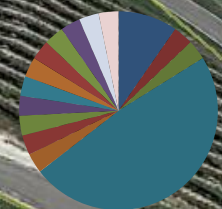


ST_IN



■ Infetti
■ Non Infetti

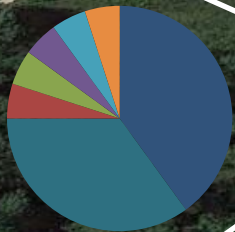
VV



SP12

Montà d'Alba

ST_OUT



ST_OUT



■ Infetti
■ Non Infetti

ST_IN

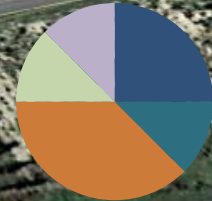


ST_IN

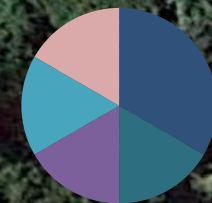


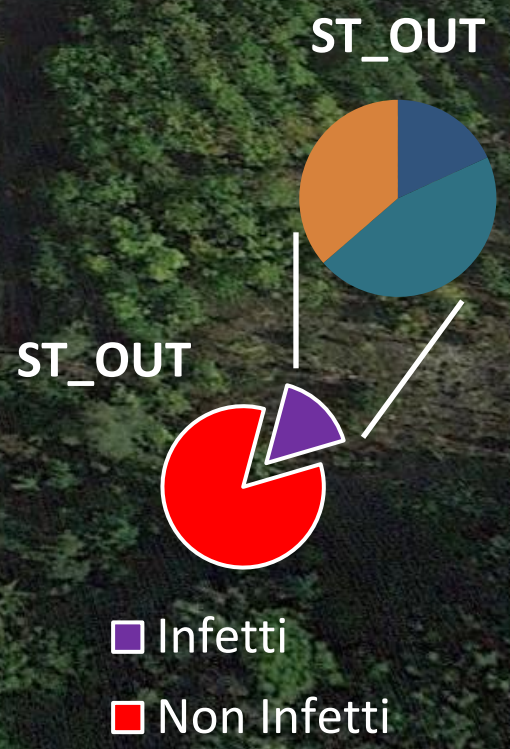
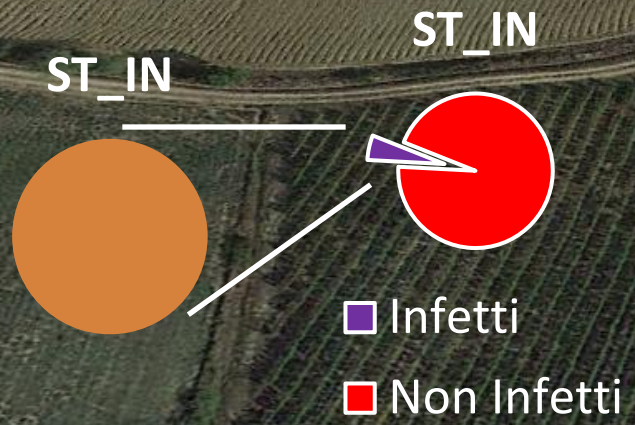
■ Infetti
■ Non Infetti

VV



WG

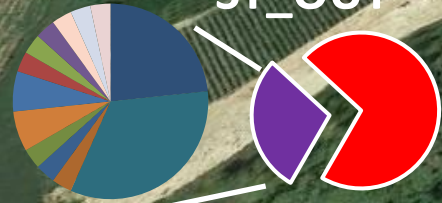




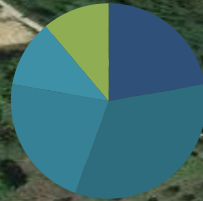
Portacomaro^N

ST_OUT

ST_OUT



WG



CL



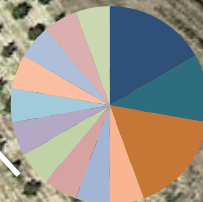
VV



ST_IN



ST_IN



■ Infetti

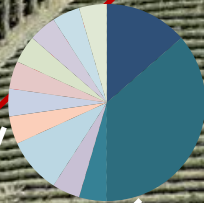
■ Non Infetti

Castel Rocchero

Bordini

Stessa

ST_IN



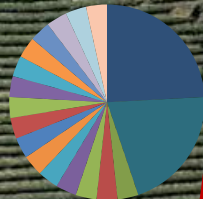
ST_IN



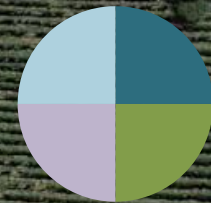
■ Infetti

■ Non Infetti

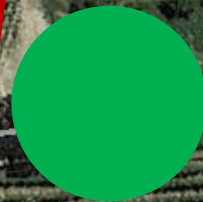
VV



VV_OUT



CL



Preliminare! Caratterizzazione in corso

La Morra

ST_IN



■ Infetti
■ Non Infetti

VV



CL



WG



ST_OUT

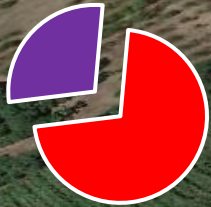


■ Infetti
■ Non Infetti

Preliminare! Caratterizzazione in corso

Asti

ST_OUT



■ Infetti

■ Non Infetti

ST_IN



■ Infetti

■ Non Infetti

VV



WG



Conclusioni

Elevate catture ed elevate % di cicaline infette, soprattutto nel comparto selvatico

La presenza di un elevato numero di cicaline nei vigneti trattati con insetticidi di sintesi suggerisce l'importanza del trasferimento del vettore dall'esterno

Presenza di numerosi genotipi di FD: significato biologico?

Tra gli isolati caratterizzati, uno, identico a FD-C, non è mai presente in infezioni miste

Genotipi di FD in clematide non compatibili con quelli ritrovati in viti coltivate e nel vettore, quindi la clematide non sembra rilevante nel ciclo epidemiologico di FD in Piemonte

Conclusioni

Genotipi di FD in viti inselvatichite e in *S. titanus* esterni al vigneto ben correlabili con quelli presenti nelle vite infette in vigneto (infezione primaria)



Necessità di gestire il comparto selvatico, almeno nelle vicinanze dei vigneti

Genotipi di FD in *S. titanus* interni al vigneto ben correlabili con quelli presenti nelle vite infette (infezione secondaria)



Necessità di continuare a controllare le popolazioni del vettore nel vigneto perché le infezioni secondarie sembrano persistere accanto a quelle primarie