

ATTUALI CONOSCENZE SU SCAPHOIDEUS TITANUS

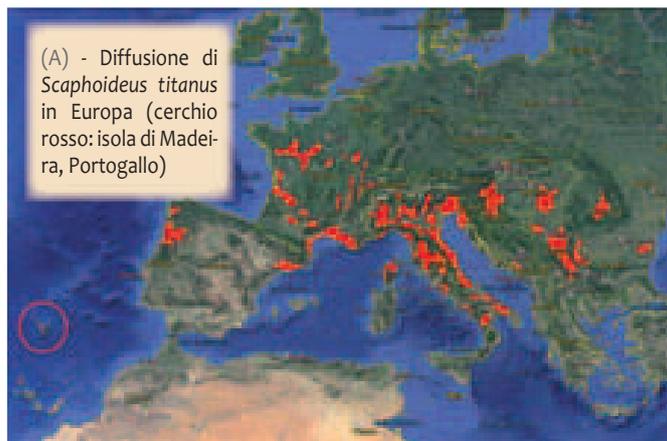
Alberto Alma, Federico Lessio, Elena Gonella, Luca Picciau

Introduzione

La Flavescenza dorata (FD) grave fitoplasmosi della vite a carattere epidemico, causa di pesanti ripercussioni economiche sul comparto vitivinicolo, è trasmessa dal cicadellide *Scaphoideus titanus* Ball. Benché non si escluda, come emerge dalla letteratura, che altri emittenti ampelofagi occasionali possano avere un ruolo nella trasmissione della FD, ad oggi *S. titanus* è da considerarsi il suo vettore principale, contro il quale occorre mettere in atto tutte le strategie note per il contenimento, e implementare la ricerca di metodi di lotta alternativi e a basso impatto ambientale. Il presente articolo ha lo scopo di riassumere le conoscenze su *S. titanus*, facendo il punto in particolare sulle metodologie di lotta note e sulle prospettive future.

Sistematica, origine, distribuzione

Scaphoideus titanus Ball (= *S. littoralis* Ball) appartiene all'ordine Hemiptera, sottordine Cicadomorpha, famiglia Cicadellidae, sottofamiglia Deltocephalinae. Si tratta di una specie originaria del Nord America, dove è diffusa in 38 Stati degli USA e in 5 Regioni del Canada (Chuche e Thiery, 2014a). In Europa *S. titanus* è giunto alla fine degli anni Cinquanta, in Francia (Bonfils e Schvester, 1958). Attualmente è presente in 14 Stati europei, dal Portogallo alla Bulgaria (A). Inizialmente, si è diffuso nell'Europa occidentale, con focolai in Italia, Svizzera, Portogallo e Spagna. Successivamente, oltre a diffondersi nei Paesi in cui già era stato segnalato, è stato ritrovato anche nell'Europa dell'Est (Chuche e Thiery, 2014 a). La segnalazione più recente riguarda la Slovacchia (Tothova et al., 2015). La sua progressiva (e apparentemente inesorabile) diffusione da Occidente a Oriente potrebbe essere stata favorita anche da motivi politici, dato che il crollo del blocco sovietico e la disgregazione della Jugoslavia hanno determinato l'apertura dei mercati e il conseguente aumento della commer-



(A) - Diffusione di *Scaphoideus titanus* in Europa (cerchio rosso: isola di Madeira, Portogallo)

cializzazione del materiale vivaistico. Peraltro, nell'ultimo decennio l'interesse nei confronti della FD e di *S. titanus* e i controlli legati agli organismi da quarantena hanno subito un'impennata tale per cui sono aumentati anche i piani di monitoraggio: in effetti, è possibile che in alcuni Paesi questa specie sia stata segnalata recentemente solo perché in precedenza non era mai stata cercata. Vale la pena notare come *S. titanus* sia presente anche in alcune regioni insulari, dove per forza di cose non può essere giunto tramite dispersione attiva, quali la Corsica (Chuche e Thiery, 2014a), l'isola di Ischia (Ferretti et al., 2014) e l'isola di Madeira, nell'Oceano Atlantico (Torres et al., 2013).

La prima segnalazione in Italia risale al 1963 nella Liguria di Ponente (Vidano, 1964). Inizialmente era ritenuta una specie stenoica, diffusa solo a cavallo del 45° parallelo. Tuttavia all'inizio degli anni 2000 sono avvenute le prime segnalazioni dal Sud Italia (Viggiani, 2002, 2003). Attualmente (B) è presente in tutta la penisola ad eccezione del Molise e della Calabria, mentre è stato segnalato di recente in Puglia (Digiario et al., 2014) e nelle Marche (Riolo et al., 2014). Al contrario è assente nelle Isole maggiori (Lessio et al., 2011c).

La sua diffusione è presumibilmente imputabile alla commercializzazione di materiale vivaistico contenente le uova svernanti. Studi in campo genetico hanno inoltre dimostrato come le popolazioni di *S. titanus* in Europa siano poco differenziate e che la diffusione di questa cicalina sia la conseguenza di un'unica introduzione dall'areale di origine (Papura et al., 2012).

Morfologia

Le uova di *S. titanus* sono fusiformi, di colore bianco-crema, compresse lateralmente, affusolate al polo cefalico e arrotondate al polo caudale, e sono lunghe circa 1,5 mm. Al termine dello sviluppo, in prossimità della schiusa, in trasparenza è possibile vedere gli occhi dell'embrione, di colore rosso (Vidano, 1964).

Sono presenti cinque stadi giovanili. I primi due (N1, N2) sono privi di abbozzi alari, e vengono detti di neanide. Gli ultimi tre (N3, N4, N5), in cui sono presenti gli abbozzi alari, sono chiamati ninfe. La N1 (neanide di prima età, o neonata) misura circa 1,5 mm; le dimensioni dell'insetto aumentano quindi di circa 1 mm a ogni muta, fino a raggiungere circa 5 mm allo stadio N5. Gli stadi da N1 a N3 presentano una colorazione uniforme bianco-perlacea; gli stadi N4 e N5 hanno invece una colorazione di base tendente al giallo paglierino, con bande brune sull'addome. In tutti gli stadi giovanili, gli ultimi uriti dell'addome presentano una macchia romboidale nera per lato (Vidano, 1964; Della Giustina et al., 1992).

A prima vista, le neanidi possono essere confuse con gli stadi giovanili di altri auchenorrhinchi quali *Metcalfa pruinosa* (Say) ed *Empoasca vitis* (Göthe) (cicalina verde). Esistono tuttavia caratteri che permettono di distinguere



(B) - Diffusione in Italia di *Scaphoideus titanus* (cerchio rosso: Ischia, NA)

con facilità le diverse specie. I giovani di *M. pruinosa* (N1 e N2) sono più tozzi, di aspetto globoso, presentano due code cerosi nella parte terminale dell'addome, tendono a disporsi lungo la nervatura fogliare principale (mentre quelli di *S. titanus* si distribuiscono a caso sulla foglia) e producono cera che li ricopre. In *E. vitis* il vertice del capo è arrotondato, mentre in *S. titanus* è a forma di angolo acuto; inoltre, i giovani della cicalina verde quando sono disturbati scappano camminando a zig-zag, mentre quelli di *S. titanus* tendono a saltare via. Infine, *S. titanus* è l'unico a presentare le **macchie romboidali nere sull'addome** (Alma *et al.*, 2008) (C).

L'adulto è lungo 4,5-5 mm (maschio) e 5,5-6 mm (femmina), e ha una colorazione di base a bande oca-brune sul vertice e sul torace (C). Nel capo, alla transizione tra vertice e fronte sono presenti linee nere trasversali (3-4 nella femmina, 2-3 nel maschio). Le ali sono di colore bruno con alcune porzioni biancastre, e hanno nervature nere. Le zampe sono di color crema, ad eccezione delle metatoraciche che presenta-

(C) - *Scaphoideus titanus*. Da sinistra a destra: neanide (N1), lunghezza naturale 1,5 mm; ninfa (N5), lung. nat. 5 mm; adulto, lung. nat. 5 mm



no bande più scure (Vidano, 1964). Gli adulti di *S. titanus* a prima vista possono essere confusi con quelli di altre cicaline, soprattutto sulle trappole cromotattiche. I caratteri per l'identificazione differenziale delle specie più simili sono riassunti in (D) (per praticità, sono stati presi i caratteri più evidenti in visione dorsale).

Ciclo biologico

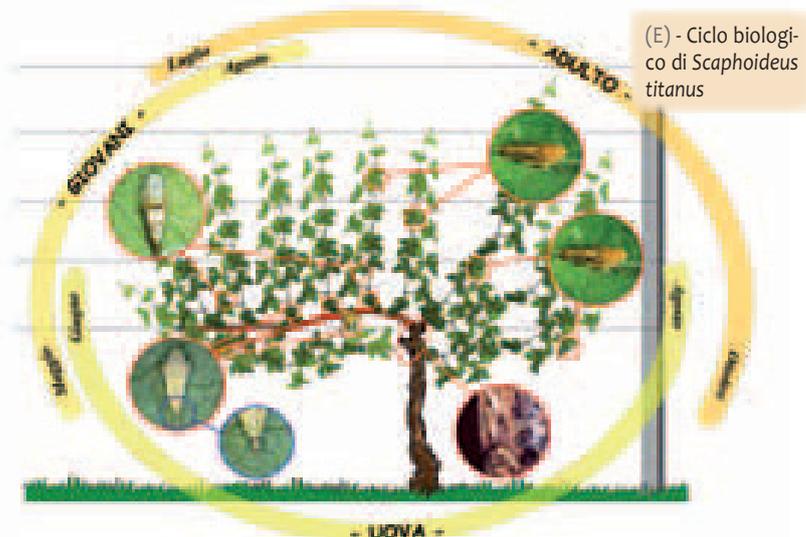
S. titanus compie una sola generazione l'anno (Vidano, 1964; Chuche e Thiery, 2014a) (E). Lo **svernamento** avviene allo stadio di **uovo**, deposto sotto la corteccia (ritidoma) della vite, singolarmente o a gruppi di 3-6 elementi (Vidano, 1964). Il più utilizzato per l'ovodeposizione è il **legno di due anni**, ma anche il legno più vecchio può

(D) - Principali differenze morfologiche e biologiche tra *Scaphoideus titanus* e alcune specie di cicadellidi con cui può essere confuso quando viene catturato sulle trappole cromotattiche

| Specie | Lung. (mm) | Vertice del capo | Pronoto e ali | Periodo di volo | Piante ospiti |
|----------------------------------|----------------------------------|---|--|------------------|---|
| <i>Scaphoideus titanus</i> | Maschio: 5 Femmina: 5,5-6 | Angolo acuto 45° . 2-3 bande trasversali oca e bianco-crema | A bande, oca e crema | Luglio-ottobre | Vite europea e americana |
| <i>Orientus ishidae</i> | Maschio: 4,5-5 Femmina: 5-6,5 | Tondo, a mosaico oro, bianco-crema e nero | A mosaico, oro, bianco crema e nero | Luglio-agosto | Nocciolo, salice, betulla e altre latifoglie arboree |
| <i>Anoplotettix fuscovenosus</i> | Maschio: 5,5-6 Femmina: 6-6,5 | Tondo, con due punti neri tra gli occhi composti | Uniforme, giallo beige | Maggio-settembre | Vite e latifoglie arboree (giovani su dicotiledoni erbacee) |
| <i>Phlogotettix cyclops</i> | Maschio: 4,5-5 Femmina: 5,5-6 | Angolo acuto 45°, macchia nera tra gli occhi | Uniforme, giallo beige | Agosto-settembre | Noce e altre latifoglie arboree |
| <i>Platymetopius major</i> | Maschio: 5-6 Femmina: 6-6,5 | Angolo acuto 30° | Rosso matone con parti giallo paglierino | Agosto-settembre | Querce |

essere sfruttato; raramente le uova sono deposte nel legno di un anno (Vidano, 1964; Bagnoli *et al.*, 2011; Lessio e Alma, 2013). La **temperatura** è il maggior fattore condizionante la dinamica della schiusa, che è più rapida in caso di inverni rigidi (Chuche e Thiery, 2009, 2014a). Tale aspetto sembra avere un ruolo nel regolare la **sincronia fra le schiuse e il germogliamento** della vite, in modo tale da garantire alle neanidi la disponibilità di una fonte alimentare (Chuche *et al.*, 2015). Inoltre, inverni miti sembrano determinare una maggiore proterandria (Bressan *et al.*, 2005b; Chuche e Thiery, 2012).

Anche lo sviluppo post-embriale è influenzato dalla temperatura. In condizioni di laboratorio, ha una durata di 52 giorni a 18 °C e di circa 25 giorni a 29 °C, mentre le temperature cardinali minime e massime necessarie alla schiusa sono rispettivamente 18 ° e 27 °C (Falzoi *et al.*, 2014). In vigneto, le prime neanidi appaiono di norma tra la prima e la seconda decade di maggio, mentre gli adulti sono presenti dall'inizio di luglio (E). Il picco di volo avviene tra la fine di luglio e la metà di agosto, mentre gli ultimi **adulti** sono osservabili **alla fine di ottobre**: questo prolungamento in tarda stagione si è verificato sempre più frequentemente negli ultimi 10 anni, e potrebbe essere una conseguenza



(E) - Ciclo biologico di *Scaphoideus titanus*

delle temperature autunnali sempre più miti. Di conseguenza, la trasmissione della FD potrebbe avvenire anche durante la prima metà dell'autunno, e di tale aspetto deve essere tenuto conto nell'impostazione della lotta insetticida.

I **richiami sessuali** tra gli adulti sono di tipo **sonoro**, con emissione di vibrazioni (Mazzoni *et al.*, 2009c). Peraltro, sembra che anche i giovani utilizzino le vibrazioni, probabilmente per radunarsi sulla stessa fonte alimentare (Chuche *et al.*, 2011). La *sex ratio* (percentuale dei due sessi) è di circa 1:1, tuttavia spesso le trappole cromotattiche catturano più maschi che femmine a causa della maggior propensione al volo dei primi (Lessio *et al.*, 2009b).

Rapporti pianta-insetto-fitoplasma

S. titanus è una specie **strettamente ampelofaga**: il ciclo biologico può essere completato esclusivamente su specie del genere *Vitis*, ovvero la vite europea *Vitis vinifera* L., le viti americane quali, *V. riparia* Michx e *V. labrusca* (L.) in condizioni semi-naturali (Vidano, 1966; Maixner *et al.*, 1993), e i ricacci di portainnesto inselvaticiti, costituiti da *V. rupestris* Scheele e *V. riparia* × *berlandieri* (Lessio *et al.*, 2007). Indagini di campo condotte su oltre 60 potenziali specie ospiti, hanno confermato che *S. titanus* vive esclusivamente sulla vite (Schvester *et al.*, 1962). Inoltre, prove condotte in laboratorio su sette specie (pesco, quercia, nocciolo, frangola, vite vergine, salice e castagno) hanno dimostrato come raramente i giovani di *S. titanus* riescano a sopravvivere per più di pochi giorni; inoltre, il tasso di sopravvivenza cresce all'aumentare delle età dell'insetto, suggerendo come le neanidi preferiscano comunque la vite (Schvester, 1963).

I giovani sono attratti da **sostanze volatili emesse dalle foglie** della vite (Mazzoni *et al.*, 2009a). L'**attività trofica**, a spese di linfa elaborata, è di **tipo floematico**, anche se in parte *S. titanus* ha dimostrato di potersi nutrire nello xilema (Vidano, 1964); i maschi sembrano inoltre nutrirsi più a lungo nel floema rispetto alle femmine (Chuche e Thiéry, 2014b).

S. titanus è il vettore principale dei fitoplasmi agenti di FD, ed al momento è ritenuto l'unico in grado di trasmet-

tere la malattia secondo il ciclo chiuso, da vite a vite. I sottogruppi trasmessi sono il **16SrV-C** e il **16SrV-D** (Mori *et al.*, 2002; Chuche e Thiéry, 2014a). Il processo di trasmissione comprende le fasi di acquisizione, latenza e inoculazione. L'**acquisizione**, du-

durante la quale i fitoplasmi sono assunti dal floema e una volta ingeriti entrano nel canale alimentare, ha una durata variabile tra alcune ore e pochi giorni (4-5); la **latenza**, durante la quale i fitoplasmi si propagano e si moltiplicano nel corpo dell'insetto, dura circa 4-5 settimane; infine l'**inoculazione**, che avviene quando i fitoplasmi presenti ormai nelle ghiandole salivari vengono iniettati con la saliva nel floema delle piante sane, avviene nell'arco di pochi giorni (Chuche e Thiéry, 2014a). La trasmissione transovarica dei fitoplasmi agenti della FD non è stata dimostrata, sebbene fitoplasmi di un altro gruppo sistematico (16SrI) siano stati identificati in uova di *S. titanus* (Alma *et al.*, 1997). Di norma, l'acquisizione avviene da parte delle ninfe di terza età e oltre (N3, N4, N5) che si nutrono su piante infette, mentre le N1 e N2 non hanno successo a causa sia della ridotta lunghezza degli stiletti, sia del basso titolo di fitoplasmi nella vite in quel determinato periodo della stagione (Galletto *et al.*, 2014). L'inoculazione è prerogativa degli adulti, per due motivi: il tempo necessario a completare la fase di latenza dà modo all'insetto di completare la metamorfosi, e inoltre solo gli adulti hanno la capacità di spostarsi in volo da una pianta infetta a una sana.

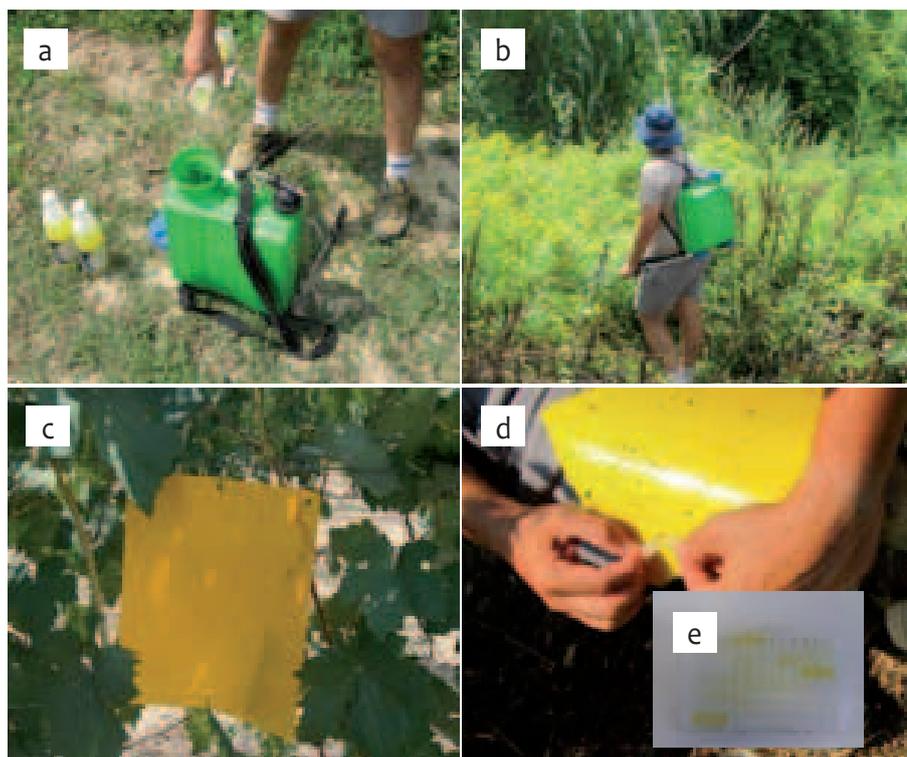
L'**infettività** dipende in gran parte dal momento della stagione, ed è **massima** generalmente **alla fine dell'estate** a causa della maggior concentrazione di fitoplasma sia nelle piante che negli insetti (Bressan *et al.*, 2006). L'efficienza di acquisizione è minore (praticamente nulla) in viti soggette



a recovery rispetto a quelle infette e sintomatiche, ed è maggiore in alcuni vitigni rispetto ad altri: ad esempio, *S. titanus* acquisisce in misura maggiore sul Barbera (A) rispetto al Nebbiolo. Infine, l'efficienza di acquisizione aumenta in tarda estate a causa dell'incremento della concentrazione dei fitoplasmi nella pianta (Bressan *et al.*, 2005b; Galletto *et al.*, 2014; Roggia *et al.*, 2014). La co-evoluzione tra il fitoplasma 16SrV e *S. titanus* è ritenuta recente, dal momento che la fitness degli individui infetti sembra più ridotta rispetto a quella dei sani (Bressan *et al.*, 2005a). In laboratorio, i fitoplasmi agenti di FD possono essere trasmessi da *S. titanus* utilizzando come pianta ospite indicatrice la fava, *Vicia faba* L., che rispetto alla vite ha il vantaggio di avere un tempo d'incubazione dei sintomi estremamente breve, di circa 4 settimane (Caudwell *et al.*, 1970; Salar *et al.*, 2013).

Ecologia e rapporti con l'ambiente

Nel vigneto, la distribuzione di giovani e adulti di *S. titanus* è di tipo aggregato: ciò significa che l'insetto tende a concentrarsi in alcune porzioni del vigneto tralasciandone altre (Jermine *et al.*, 1993; Bosco *et al.*, 1997; Lessio e Alma, 2006). Questo aspetto è importante per il campionamento, come si dirà in seguito. Tuttavia, mentre i giovani sono estremamente sedentari, gli adulti presentano una buona mobilità. Una tecnica che ha permesso di chiarire l'effettiva capacità di dispersione è la **marcatura con proteine alimentari** e successiva cattura, che in Italia è sta-



(B) - Tecnica di marcatura con proteine alimentari (albume) per valutare l'attività di volo di *Scaphoideus titanus*. a) preparazione della miscela; b) distribuzione della miscela sulla vite americana; c) trappola cromotattica in vigneto; d) rimozione degli adulti di *S. titanus* dalla trappola; e) piastra ELISA con esemplari positivi al tracciante (pozzetti colorati di giallo)

ta applicata per la prima volta proprio nei confronti di *S. titanus* (B) (Lessio et al., 2014). Tale tecnica consiste nel distribuire direttamente sulle piante, in questo caso sui focolai di vite americana infestati dall'insetto, una soluzione acquosa di **albume d'uovo** (10%) o di latte vaccino (20%), e di disporre trappole cromotattiche a diversa distanza dalla zona trattata. Le cicaline vengono a contatto con le sostanze traccianti frequentando le piante e una volta catturate sulle trappole vengono rimosse e sottoposte ad analisi ELISA per l'identificazione del tracciante stesso. L'albume d'uovo si è dimostrato di gran lunga più efficace, con il 30-50% di individui marcati rispetto al 18% fatto registrare dal latte. In alcuni casi, gli adulti hanno dimostrato grande **capacità di dispersione**, arrivando a spostarsi per oltre 400 m (Lessio et al., 2014), e fino a oltre 2 km (dati non pubblicati). Tuttavia, la maggior parte degli spostamenti è dell'ordine di **alcune decine di metri** (Lessio e Alma, 2004a; Lessio et al., 2014).

La correlazione spaziale degli adulti (che indica quanto l'entità delle popolazioni sul territorio cambi in funzione della loro distanza reciproca) è in effetti di circa 150-200 m, oltre i quali i fattori maggiormente condi-

zionanti sono l'ambiente circostante e la difesa fitosanitaria (Lessio et al., 2011b). Si presume che la dispersione degli adulti avvenga lungo corridoi ecologici con presenza di vite, piuttosto che direttamente in linea d'aria (Lessio e Alma, 2004a; Lessio et al., 2014). Lo spostamento degli adulti all'interno del vigneto tende a seguire l'orientamento dei filari (Lessio et al., 2009a), e l'effetto-bordo risente principalmente delle zone non gestite con presenza di vite (Pavan et al., 2012; Lessio et al., 2014). Tali aspetti potrebbero essere sfruttati, in futuro, per individuare zone del vigneto con funzione di **cuscinetto** o di barriera naturale nell'ambito della lotta insetticida. L'attività di volo è prevalentemente crepuscolare, sia per i maschi che per le femmine (Lessio e Alma, 2004b).

Monitoraggio

Gli stadi giovanili (neanidi e ninfe) vengono solitamente monitorati tramite conteggi diretti. Per la stima della **densità di popolazione** sono stati elaborati alcuni piani di campionamento. Uno è un **metodo sequenziale** che prevede il conteggio e l'arresto al raggiungimento di una determinata soglia (Lessio e Alma, 2006), ed è basato sul fatto che il vettore si trova concentrato in pochi punti del vigneto. Ciò significa che, soprattutto in caso di basse densità di popolazione, è necessario osservare un elevato numero di piante per evitare una sottostima; al contrario, in caso di popolazione elevata, è sufficiente conteggiare un minor numero di piante. Tale metodo ha un livello di precisione del 75%, comunemente accettato nei programmi di assistenza tecnica, e rappresenta un buon compromesso tra accuratezza e tempo necessario per il campionamento (C). I conteggi vengono effettuati esaminando la pagina inferiore di **5 foglie per pianta**, scelte fra quelle più vicine al ceppo o comunque al legno di due o più anni, ove vengono deposte

(C) - Scheda per il rilievo sequenziale degli stadi giovanili di *Scaphoideus titanus*

| Comune | | Azienda | | Foglio | | Particella | | | | | |
|---------|-------|---------|--------|------------|-------|------------|------|-----|--|-----|------|
| Data | | | | Rilevatore | | | | | | | |
| Vigneto | | Vigneto | | Vigneto | | Vigneto | | | | | |
| piante | ninfe | stop | dens | piante | ninfe | stop | dens | | | | |
| 1 | | 229,6 | 229,63 | 38 | | 7,0 | 0,18 | 75 | | 3,6 | 0,05 |
| 2 | | 118,0 | 58,99 | 39 | | 6,8 | 0,17 | 76 | | 3,6 | 0,05 |
| 3 | | 79,9 | 26,64 | 40 | | 6,6 | 0,17 | 77 | | 3,5 | 0,05 |
| 4 | | 60,6 | 15,15 | 41 | | 6,5 | 0,16 | 78 | | 3,5 | 0,04 |
| 5 | | 48,9 | 9,78 | 42 | | 6,3 | 0,15 | 79 | | 3,4 | 0,04 |
| 6 | | 41,1 | 6,84 | 43 | | 6,2 | 0,14 | 80 | | 3,4 | 0,04 |
| 7 | | 35,4 | 5,06 | 44 | | 6,1 | 0,14 | 81 | | 3,4 | 0,04 |
| 8 | | 31,1 | 3,89 | 45 | | 5,9 | 0,13 | 82 | | 3,3 | 0,04 |
| 9 | | 27,8 | 3,09 | 46 | | 5,8 | 0,13 | 83 | | 3,3 | 0,04 |
| 10 | | 25,1 | 2,51 | 47 | | 5,7 | 0,12 | 84 | | 3,3 | 0,04 |
| 11 | | 22,9 | 2,08 | 48 | | 5,5 | 0,12 | 85 | | 3,2 | 0,04 |
| 12 | | 21,1 | 1,76 | 49 | | 5,6 | 0,11 | 86 | | 3,2 | 0,04 |
| 13 | | 18,5 | 1,50 | 50 | | 5,4 | 0,11 | 87 | | 3,1 | 0,04 |
| 14 | | 18,2 | 1,30 | 51 | | 5,3 | 0,10 | 88 | | 3,1 | 0,04 |
| 15 | | 17,0 | 1,13 | 52 | | 5,2 | 0,10 | 89 | | 3,1 | 0,03 |
| 16 | | 16,0 | 1,00 | 53 | | 5,1 | 0,10 | 90 | | 3,0 | 0,03 |
| 17 | | 15,1 | 0,89 | 54 | | 5,0 | 0,09 | 91 | | 3,0 | 0,03 |
| 18 | | 14,3 | 0,79 | 55 | | 4,9 | 0,09 | 92 | | 3,0 | 0,03 |
| 19 | | 13,6 | 0,71 | 56 | | 4,8 | 0,09 | 93 | | 2,9 | 0,03 |
| 20 | | 12,9 | 0,65 | 57 | | 4,7 | 0,08 | 94 | | 2,9 | 0,03 |
| 21 | | 12,3 | 0,58 | 58 | | 4,6 | 0,08 | 95 | | 2,9 | 0,03 |
| 22 | | 11,8 | 0,54 | 59 | | 4,6 | 0,08 | 96 | | 2,9 | 0,03 |
| 23 | | 11,3 | 0,49 | 60 | | 4,5 | 0,07 | 97 | | 2,8 | 0,03 |
| 24 | | 10,8 | 0,45 | 61 | | 4,4 | 0,07 | 98 | | 2,8 | 0,03 |
| 25 | | 10,4 | 0,42 | 62 | | 4,4 | 0,07 | 99 | | 2,8 | 0,03 |
| 26 | | 10,00 | 0,39 | 63 | | 4,3 | 0,07 | 100 | | 2,8 | 0,03 |
| 27 | | 9,7 | 0,38 | 64 | | 4,2 | 0,07 | 101 | | 2,7 | 0,03 |
| 28 | | 9,3 | 0,33 | 65 | | 4,2 | 0,06 | 102 | | 2,7 | 0,03 |
| 29 | | 9,0 | 0,31 | 66 | | 4,1 | 0,06 | 103 | | 2,7 | 0,03 |
| 30 | | 8,7 | 0,29 | 67 | | 4,0 | 0,06 | 104 | | 2,6 | 0,03 |
| 31 | | 8,5 | 0,27 | 68 | | 4,0 | 0,06 | 105 | | 2,6 | 0,02 |
| 32 | | 8,2 | 0,25 | 69 | | 3,69 | 0,06 | 106 | | 2,6 | 0,02 |
| 33 | | 8,0 | 0,24 | 70 | | 3,9 | 0,06 | 107 | | 2,6 | 0,02 |
| 34 | | 7,8 | 0,23 | 71 | | 3,8 | 0,05 | 108 | | 2,6 | 0,02 |
| 35 | | 7,5 | 0,22 | 72 | | 3,8 | 0,05 | 109 | | 2,5 | 0,02 |
| 36 | | 7,3 | 0,20 | 73 | | 3,7 | 0,05 | 110 | | 2,5 | 0,02 |
| 37 | | 7,2 | 0,19 | 74 | | 3,7 | 0,05 | 111 | | 2,5 | 0,02 |

| piante | ninfe | stop | densità | piante | ninfe | stop | densità | piante | ninfe | stop | densità |
|---|-------|-------|---------|--|-------|-------|---------|--------|-------|-------|---------|
| 1 | 2 | 229,6 | 229,63 | 1 | 2 | 229,6 | 229,63 | 1 | 2 | 229,6 | 229,63 |
| 2 | 3 | 118,0 | 58,99 | 2 | 3 | 118,0 | 58,99 | 2 | 3 | 118,0 | 58,99 |
| 3 | 5 | 79,9 | 26,64 | 3 | 5 | 79,9 | 26,64 | 3 | 5 | 79,9 | 26,64 |
| 4 | 5 | 60,6 | 15,15 | 4 | 5 | 60,6 | 15,15 | 4 | 5 | 60,6 | 15,15 |
| 5 | 5 | 48,9 | 9,78 | 5 | 5 | 48,9 | 9,78 | 5 | 5 | 48,9 | 9,78 |
| 6 | 5 | 41,1 | 6,84 | 6 | 5 | 41,1 | 6,84 | 6 | 5 | 41,1 | 6,84 |
| 7 | ... | 35,4 | 5,06 | 7 | 9 | 35,4 | 5,06 | 7 | 9 | 35,4 | 5,06 |
| 8 | ... | 31,1 | 3,89 | 8 | 12 | 31,1 | 3,89 | 8 | 12 | 31,1 | 3,89 |
| 9 | ... | 27,8 | 3,09 | 9 | 12 | 27,8 | 3,09 | 9 | 12 | 27,8 | 3,09 |
| 5 < 41,1: continuare campionamento, densità < 6,84 giovani per pianta | | | | 10 | 15 | 25,1 | 2,51 | 10 | 15 | 25,1 | 2,51 |
| | | | | 11 | ... | 22,9 | 2,08 | 11 | 16 | 22,9 | 2,08 |
| | | | | 12 | ... | 21,1 | 1,76 | 12 | 17 | 21,1 | 1,76 |
| | | | | 13 | ... | 19,5 | 1,50 | 13 | 17 | 19,5 | 1,50 |
| | | | | 14 | ... | 18,2 | 1,30 | 14 | 19 | 18,2 | 1,30 |
| 15 | ... | 17,0 | 1,13 | 15 | ... | 17,0 | 1,13 | 15 | ... | 17,0 | 1,13 |
| | | | | 15 < 25,1: continuare campionamento, densità < 2,51 giovani per pianta | | | | | | | |
| | | | | 19 > 18,2: interrompere campionamento, densità = 1,30 giovani per pianta | | | | | | | |

(A) - Esempio per la compilazione della scheda sequenziale per il rilievo di *Scaphoideus titanus*

le uova; le piante invece devono essere scelte a caso nel vigneto. I dati vengono riportati su una scheda formata da 4 colonne: piante (numero progressivo di ceppi osservati), ninfe (numero cumulativo di giovani di *S. titanus* osservati), stop (soglia d'arresto), e densità (giovani di *S. titanus* per 5 foglie per pianta). A ogni pianta ispezionata, si sommano i giovani osservati sulle 5 foglie e si riporta il dato nella colonna "ninfe", sommandolo progressivamente a quello della pianta precedente. Quando il totale della colonna "ninfe" eguaglia o supera quello della colonna "stop", il campionamento può essere interrotto e la relativa densità di *S. titanus* è indicata nella quarta colonna "densità". Se il valore di "stop" viene superato di più unità nel conteggio tra una pianta e l'altra, occorre fare riferimento al valore

state trovate meno di 2 ninfe. La scheda è comunemente utilizzata in Piemonte per il monitoraggio di *S. titanus*, in particolare nell'ambito dei Progetti Pilota (Lessio *et al.*, 2011a). Un metodo analogo, ma di tipo binomiale (presenza-assenza) è invece utilizzato in Svizzera (Rigamonti *et al.*, 2013).

Altri metodi di campionamento per i giovani sono il **retino entomologico** (B), oppure lo **scuotimento dei tralci** e successiva raccolta degli insetti mediante un telo o un ombrello entomologico. Tali metodi da un lato consentono di raccogliere facilmente insetti vivi in grande

più vicino al dato osservato (A). In caso di densità estremamente basse, la soglia oltre la quale il campionamento può essere interrotto corrisponde a una densità di 0,01 insetti/pianta, ovvero se dopo aver osservato 137 piante sono

numero, dall'altro non forniscono tuttavia alcuna stima della popolazione e sono comunque molto influenzati dalla mano del campionatore stesso.

Gli adulti possono essere catturati con **trappole cromotattiche adesive**. Di norma si utilizzano quelle gialle (C), anche se in alcuni casi il colore rosso è risultato più attrattivo (Lessio e Alma, 2004a). Le trappole devono essere installate verticalmente all'interno della vegetazione della vite. In Svizzera si è preferito fissarle orizzontalmente (Jermine *et al.*, 1993), anche se si ritiene che questo metodo sia meno facile da gestire. Le trappole devono essere sostituite ogni 10-15 giorni, indicativamente dall'inizio di luglio alla fine di ottobre in funzione della presenza degli adulti di *S.*



(C) - Trappola cromotattica gialla in vigneto

titanus. Di norma, su una superficie di 0,9 ha occorre utilizzare almeno **3 trappole, disposte lungo la diagonale** della particella stessa. Il retino entomologico si presta invece a campionamenti di tipo diretto, è più influenzato dalla "mano"



(B) - Campionamenti con retino entomologico in vigneto (a), e su vite americana inselvaticata (b)

dell'operatore e più dispendioso in termini di tempo; tuttavia permette la cattura di esemplari vivi più adatti per indagini di laboratorio e diagnosi molecolare. L'impiego di **aspiratori pneumatici a motore** (D-Vac) non è invece molto diffuso a causa della ridotta versatilità ed ergonomia rispetto all'efficienza dello strumento stesso.

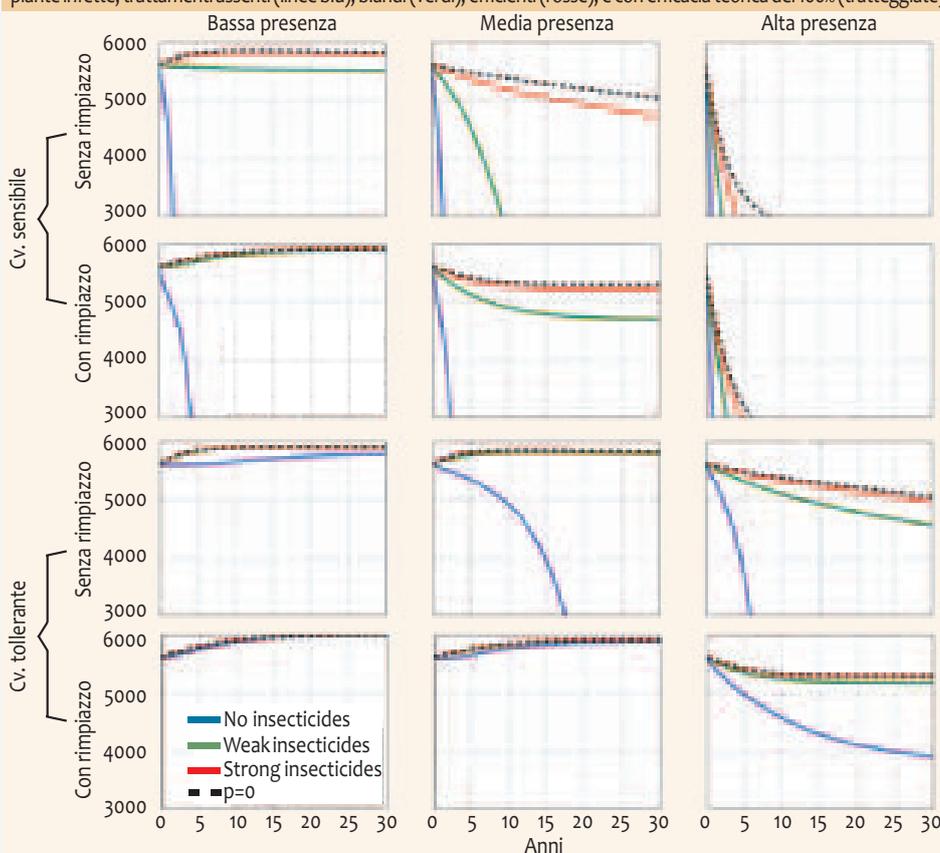
Impiego di modelli matematici

Diversi studi sono stati effettuati sull'impiego di modelli matematici per la previsione dello sviluppo e della dinamica di popolazione di *S. titanus*, così come riguardo all'epidemiologia della FD. La durata dello sviluppo embrionale e post-embriale è stata studiata prevalentemente in funzione della temperatura. Un modello di questo tipo, applicato in Piemonte, ha permesso di calcolare il tempo necessario per la schiusa delle uova e per la comparsa dei diversi stadi giovanili e degli adulti a temperature variabili tra i 20 e i 29 °C, nonché di stabilire le temperature cardinali minime e massime oltre le quali lo sviluppo si arresta. Tale modello è stato convalidato con dati di campo, e potrà in futuro essere utilizzato per la lotta integrata (Falzoi et al., 2014). Uno simile è stato messo a punto in Svizzera, per prevedere la comparsa delle N1, delle N3 (il primo stadio che può acquisire i fitoplasmi) e degli adulti, ed è utilizzato in particolare per la lotta mediante l'impiego di regolatori di crescita (Rigamonti et al., 2011).

Recentemente sono stati sviluppati modelli previsionali per la stima della popolazione di *S. titanus* da un anno all'altro a partire dai seguenti parametri: percentuale di schiusa delle uova, periodo della muta e dello sfarfallamento, fecondità, mortalità per cause naturali ed eventualmente per trattamenti insetticidi (Maggi et al., 2013; Rigamonti et al., 2014). Inoltre è stato proposto anche un modello per la previsione delle epidemie di FD in funzione della dinamica di popolazione di *S. titanus* (compreso l'effetto degli insetticidi) e della presenza di piante infette in vigneto (Maggi et al., 2014). Tuttavia, tali modelli non tengono conto di un fattore importante quale la reinfestazione

dei vigneti da parte di adulti di *S. titanus* provenienti dall'esterno. Un modello previsionale che ne tenesse conto è stato costruito invece senza rendere esplicita la presenza di *S. titanus*, ma facendola comparire come un parametro di accoppiamento tra piante infette e sane e che aumenta all'aumentare dei focolai di reinfestazione (mentre l'impiego d'insetticidi lo fa diminuire). Gli altri parametri considerati sono la latenza dei sintomi, la tendenza del vitigno al recovery, l'estirpo e l'eventuale rimpiazzo delle piante malate. Il modello mostra come il fattore maggiormente condizionante l'epidemiologia della FD sia la presenza di aree rifugio e in secondo luogo la sensibilità del vitigno e l'impiego d'insetticidi: un vigneto di una varietà particolarmente suscettibile (es. Barbera) in una zona con elevata presenza di incolti con vite selvatica è soggetto a rapido deterioramento nel giro di una decina di anni, indipendentemente dall'impiego d'insetticidi e dal rimpiazzo, mentre all'estremo opposto una varietà più tollerante (es. Nebbiolo) in una zona con bassa presenza d'incolti con vite selvatica può mantenersi stabile per oltre 20 anni con un minimo di lotta insetticida (D) (Lessio et al., 2015).

(D) - Pianta sane/ha in funzione di: presenza incolti con vite (bassa, media, alta); sensibilità della cv alla FD; estirpo e rimpiazzo piante infette; trattamenti assenti (linee blu), blandi (verdi), efficienti (rosse), e con efficacia teorica del 100% (tratteggiate)



Diagnostica molecolare

La presenza dei fitoplasmi nel vettore può essere diagnosticata con metodi microscopici, sierologici e molecolari. Gli ultimi, molto sensibili e specifici, sono i più comunemente utilizzati e prevedono l'estrazione del DNA totale dall'insetto e l'individuazione degli acidi nucleici (DNA o RNA) dei fitoplasmi, attraverso l'amplificazione genica mediante PCR (reazione a catena della polimerasi) o l'ibridazione molecolare. La PCR è senza dubbio la tecnica più importante, in quanto consente di identificare specifiche sequenze di DNA anche a concentrazioni molto basse. Protocolli di diagnosi diversi sono basati sull'impiego di coppie di primers con caratteristiche differenti, in base al tipo di sequenza am-

plificata (cromosomale o extracromosomale plasmidica) o al grado di specificità (primers universali o gruppo-specifici). Diverse tipologie di PCR sono state sviluppate negli ultimi anni, fra cui: (I) PCR nested, che si basa su una seconda reazione di amplificazione a partire da una prima PCR al fine di ottenere una maggiore sensibilità; (II) PCR-RFLP, che prevede l'analisi dei polimorfismi di restrizione generati in seguito alla digestione degli ampliconi con enzimi specifici, al fine di aumentare la specificità della diagnosi; (III) PCR-ELISA, che consiste nel rilevamento immunoenzimatico dell'amplicone prodotto in PCR per aumentare la sensibilità della diagnosi; (IV) PCR-dot blot, vale a dire ibridazione molecolare degli ampliconi con sonde complementari marcate; (V) Real Time PCR, che

permette di monitorare in tempo reale la produzione dell'amplicone e di quantificare il DNA bersaglio presente nel campione analizzato; (VI) amplificazione isoterma loop-mediata (LAMP), tecnica veloce ed economica di amplificazione alternativa alla PCR condotta a temperatura costante direttamente in campo. Per la diagnosi di FD in *S. titanus* i protocolli più comunemente utilizzati prevedono saggi di PCR nested basati sull'uso di primers universali e gruppo-specifici, spesso seguiti da RFLP per la distinzione dei sottogruppi, o Real Time PCR (Belli et al., 2010). Le analisi LAMP, per quanto molto promettenti nell'ambito dell'applicazione in campo, non sono state proposte fino ad ora per l'impiego sui vettori (Maejima et al., 2014; Kogovsek et al., 2015).

Lotta

La FD è considerata una **malattia da quarantena**. L'autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA) ha recentemente definito lo stato dell'arte della FD in Europa, ponendo l'accento sulla stretta associazione tra *S. titanus* ed epidemia della FD (EFSA, 2014). *S. titanus*, in quanto vettore della FD, è pertanto un organismo soggetto a lotta obbligatoria. In Italia le misure sono definite dal **DM 32442 del 31/05/2000**, e l'applicazione locale è demandata ai Servizi Fitosanitari Regionali. A seconda del livello di diffusione della FD sono riconosciute **zone insediamento (I)**, **focolaoio (F)** e **indenni a rischio (IR)**. Fra le disposizioni obbligatorie c'è il controllo delle popolazioni di *S. titanus* con trattamenti insetticidi. In Piemonte nelle zone F e I sono obbligatori due trattamenti l'anno, indicativamente dopo 30 giorni dall'inizio della schiusa delle uova e dopo altri 20 giorni. In caso di necessità sono ammessi due ulteriori trattamenti, nel rispetto dei tempi di carenza e delle limitazioni annuali d'impiego dei principi attivi (p.a.). Nelle zone IR e dove si verificano determinate condizioni di bassa popolazione del vettore, i trattamenti obbligatori sono ridotti a uno. In ogni caso il numero di trattamenti insetticidi obbligatori e consentiti, così come i p.a. autorizzati e le relative disposizioni, sono aggiornati di anno in anno da parte dei **Servizi Fitosanitari Regionali** (Regione Piemonte, 2015).

Fra i p.a. utilizzabili (2015) vi sono: tiadiazinoni (regolatori di crescita), neonicotinoidi, esteri fosforici, fenossibenzil eteri, piretroidi e piretro naturale (in aziende aderenti al disciplinare di produzione biologica). I **regolatori di crescita** (Insect Growth Regulators, IGR) agiscono inibendo la sintesi della chitina impedendo di fatto la formazione dell'esoscheletro, e per questo sono attivi soltanto sugli stadi giovanili. Dato il loro meccanismo d'azione peculiare, necessitano di un tempismo perfetto nell'applicazione: in Svizzera vengono ampiamente utilizzati sfruttando una rete di monitoraggio supportata da un modello fenologico che rileva le schiuse delle uova e di conseguenza la comparsa delle N3 (Rigamonti et al., 2011; Rigamonti et al., 2013). In Piemonte sono stati utilizzati durante i primi anni di lotta alla FD (Bosio et al., 2004), suc-

cessivamente sono stati abbandonati date le problematiche legate al tempo di utilizzo e alla crescente influenza delle aree-rifugio, che hanno aumentato la necessità di combattere gli adulti provenienti dall'esterno del vigneto. I **neonicotinoidi** sono probabilmente i più efficaci se confrontati con altri p.a. (Zezlina et al., 2013). Fra questi, nel 2015 sono autorizzati su vite thiamethoxam e acetamiprid, da usare in alternativa con un solo trattamento l'anno. I neonicotinoidi agiscono bloccando i recettori dell'acetilcolina al livello delle sinapsi neuronali (Saracco et al., 2008), e possono essere utilizzati sia contro i giovani che contro gli adulti. Oltre a diminuire sensibilmente la densità di popolazione di *S. titanus* anche perché consentono una copertura per un tempo maggiore, grazie alle loro caratteristiche sistemiche, impediscono all'insetto di trasmettere i fitoplasmi prima di morire (Saracco et al., 2008). Gli **organofosfati** (clorpirifos-etile e clorpirifos-metile) sono attivi bloccando l'azione dell'acetilcolinesterasi, e hanno lo svantaggio di agire per contatto, mostrando quindi una ridotta persistenza d'azione (Saracco et al., 2008). Di norma, vengono utilizzati per il secondo trattamento della stagione, volto a contenere gli adulti. I **fenossibenzil eteri** (p.a. etofenprox) e i piretroidi agiscono inibendo la trasmissione dell'impulso nervoso al livello di membrana assonica. Il primo viene spesso utilizzato per trattamenti in prossimità della vendemmia, dato

il basso tempo di carenza (14 giorni). I secondi, in Piemonte, sono stati introdotti a partire dal 2014: data la loro non-selettività, per le aziende in produzione integrata (PSR 2014-2020) è ammesso un solo trattamento con piretroidi, in prossimità della vendemmia.

In Italia, nelle aziende che aderiscono al disciplinare biologico, l'unico principio attivo ammesso e di comprovata efficacia è il **piretro naturale** (Caobelli e Carcereri, 1995; Bosio et al., 2004). Peraltro, il piretro non mostra lo stesso potere abbattente degli insetticidi di sintesi (Zezlina et al., 2013) e i vigneti "biologici" mostrano tendenzialmente popolazioni più elevate di *S. titanus* rispetto ai convenzionali (Lessio et al., 2011a). Il piretro ha una maggior efficacia se addizionato di piperonil butossido, che esplica un'azione sinergizzante: tuttavia recentemente quest'ultimo è stato soggetto a limitazioni a causa di residui nel vino destinato al mercato americano. Il piretro ha scarsa efficacia nei confronti degli adulti: i trattamenti devono quindi essere effettuati solo contro i giovani. Di conseguenza, data la mobilità di *S. titanus* allo stadio adulto, non è facile fare viticoltura biologica in zone ad elevata presenza d'incolti, con vite americana. Ulteriori accorgimenti per i trattamenti con piretro consistono nel trattare di sera (il p.a. è fotolabile) e acidificare la soluzione in caso di impiego di acque troppo dure.

Indipendentemente dal p.a. utilizzato, è buona norma trattare tutti i



(A) - Trattamento insetticida in vigneto



(C) - Sviluppo di vite inselvatichita in prossimità di un vigneto

filari, da entrambi i lati (A). La presenza di polloni o di erba alta nell'interfila limita l'efficacia del trattamento, pertanto è necessario **spollonare e sfalcare prima dell'applicazione**. Particolare attenzione va posta, inoltre, alla salvaguardia degli insetti pronubi: i trattamenti non vanno mai eseguiti durante la fase di fioritura della vite, inoltre non devono essere presenti piante spontanee fiorite nell'interfila e i trattamenti stessi devono essere effettuati in assenza di vento per evitare fenomeni di deriva. Infine, è doveroso rispettare i tempi di carenza per evitare la presenza di residui nel mosto. Per quanto riguarda il **viavaisimo**, la normativa piemontese prevede tre trattamenti obbligatori nei campi di piante madri marze (CPMM), e cinque sia nei campi di piante madri portainnesto (CPMP) che nei barbatellai (B) (Determina dirigenziale 89 del 17/5/2006). La scelta del momento di esecuzione dei trattamenti viene



(D) - La vite rampicante su sostegni naturali può favorire lo spostamento di *Scaphoideus titanus* in vigneto

Per quanto riguarda i limitatori naturali, nel suo areale d'origine *S. titanus* è parassitato da numerose specie di imenotteri driinidi e ditteri pipunculidi, tuttavia il loro adattamento alle condizioni climati-



(B) - Trattamento insetticida in barbatellaio

fatta sulla base dei rilievi in campo dei giovani e degli adulti. Nell'ambito della lotta integrata, inoltre, si stanno diffondendo sempre di più i già citati modelli previsionali (Rigamonti et al., 2011; Falzoi et al., 2014).

un certo grado di adattamento nei confronti di *S. titanus* (Alma e Arzone, 1994; Arzone e Alma, 1994). Attualmente, la lotta biologica non è una strada percorribile dal momento che *S. titanus* è un vettore e nei confronti della FD non esistono terapie, pertanto è auspicabile raggiungere una soglia estremamente bassa (vicina allo zero) che i limitatori naturali da soli non possono garantire.

Dal momento che *S. titanus* prospera in ambienti quali vigneti non trattati o in stato di abbandono e incolti, boschi di neoformazione e boschi veri e propri in cui vi sia sviluppo di **vite americana** (C, D, E), un metodo di lotta consiste nell'eliminazione di tali focolai (Lessio et al., 2014). Tuttavia, occorre fare alcune distinzioni dal punto di vista giuridico per quanto riguarda le linee d'intervento possibili. I vigneti in stato di abbandono, in quanto tali sono semplicemente soggetti a obbligo di estirpo.



(E) - L'assenza di una bonifica dalla vite selvatica degli incolti circostanti, può vanificare i trattamenti insetticidi e l'estirpo delle piante sintomatiche in vigneto

che europee non ha avuto successo (Nusillard et al., 2003). Alcune specie paleartiche, fra cui imenotteri driinidi e mimaridi (questi ultimi parassitoidi delle uova), hanno mostrato

Negli ambienti di tipo diverso (scarpate stradali, boschi di neoformazione, boschi veri e propri, ecc.), occorre valutare caso per caso le possibilità d'intervento soprattutto dal punto di vista normativo (Camerano e Terzuolo, 2015). In ogni caso, l'eliminazione della vegetazione ospite non deve essere effettuata in presenza degli adulti di *S. titanus*, per non favorire la diffusione verso i vigneti.

Metodi di lotta alternativi

Fra le ricerche in corso su mezzi di lotta alternativi si possono citare l'impiego del caolino, le reti escludi-insetto, la confusione sessuale vibrazionale e il controllo simbiotico. Il **caolino** è una polvere inerte, bianca, che distribuita sulle piante le rende meno visibili da parte degli insetti: è stato utilizzato con successo contro le psille del melo (Daniel *et al.*, 2005), ma la sua efficacia (o meno) nei confronti di *S. titanus* deve ancora essere confermata.

Le **reti escludi-insetto** sono state impiegate negli USA, contro *Graphocephala atropunctata* (Signoret), un vettore di *Xylella fastidiosa* Well che causa la Pierce's disease della vite (Daugherty *et al.*, 2012); tuttavia, prove effettuate in Piemonte per *S. titanus* hanno dimostrato che la loro efficacia è solo parziale (dati non pubblicati).

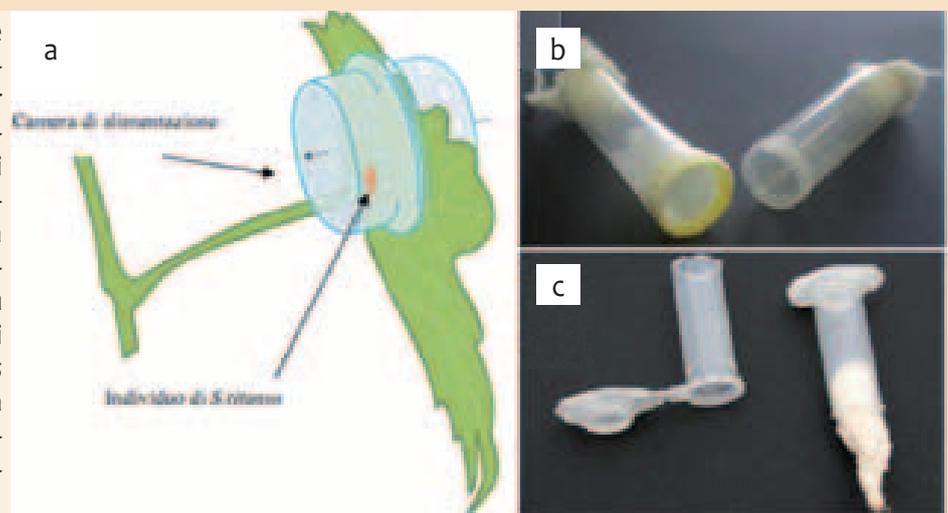
La **confusione sessuale vibrazionale** è in fase di sperimentazione (Mazzoni *et al.*, 2009b; Eriksson *et al.*, 2012).

La **termoterapia in acqua calda**, utilizzata per il risanamento da fitoplasmi del materiale di moltiplicazione, devitalizza anche le uova di *S. titanus* seppur non al 100%; peraltro, tale materiale dovrebbe essere già esente da uova all'origine, a prescindere dal trattamento di termoterapia (Lessio e Alma, 2013).

Infine, un ambito di ricerca innovativo è quello delle **interazioni simbiotiche** tra insetti e microrganismi, che sono estremamente diffuse e differenziate e hanno un profondo impatto sulla fisiologia, sul comportamento e sull'evoluzione dell'ospite (Alma e Gonella, 2013). In base alla relazione tra microrganismo e ospite sono state descritte diverse categorie di simbionti, che possono condurre a una simbiosi obbligata (simbionti primari), oppure essere legati al miglioramento della fitness degli ospiti o all'impedimento dello sviluppo degli individui non infetti (simbionti secondari), o ancora comportare effetti ecologici ed evolutivi dovuti all'isolamento riproduttivo oppure alla riduzione delle dimensioni o della diversità genetica di popolazioni diverse (manipolatori riproduttivi) (Feldhaar, 2011). I primari sono simbionti obbligati, fortemente co-evoluti, che svolgono ruoli essenziali per la vita dell'ospite, quali il rifornimento in nutrienti carenti nella sua dieta e sono ospitati in cellule specializzate (**batteriociti**). I secondari, al contrario, non sono indispensabili per la sopravvivenza dell'ospite: si tratta di simbionti facoltativi, spesso extracellulari e principalmente trasmessi orizzontalmente tra popolazioni e specie diverse di insetti, e dunque non co-evoluti con gli ospiti. I simbionti secondari incrementano la fitness dell'ospite, ma il loro ruolo non sempre è chiaro. Infine i manipolatori riproduttivi, che sono trasmessi per linea materna, si diffondono attraverso l'aumento della produzione di femmine infette a discapito di quella maschile o di femmine non infette, ottenuta con l'induzione di incompatibilità citoplasmatica, che comporta incroci sterili tra maschi infetti e femmine non infette, oppure mediante sbilanciamenti della *sex ratio* delle popolazioni degli ospiti a favore delle femmine tramite l'uccisione della progenie maschile durante l'embriogenesi (**male killing**), lo sviluppo di fenotipo femminile da parte di individui con genotipo maschile (**femminizzazione**), o l'induzione della **partenogenesi** (Werren *et al.*, 2008). Il più importante è l'alfaproteobatterio *Wolbachia pipientis* Hertig, che può infettare i due terzi delle specie di insetti, nonché numerosi altri artropodi (quali acari, ragni, scorpioni e crostacei) e anche nematodi (Schneider *et al.*, 2011) e che mette in atto tutte le strategie di alterazione riproduttiva sopra descritte.

La conoscenza delle relazioni tra insetti e simbionti può fornire un valido contributo alla **gestione dell'entomofauna** per la difesa delle produzioni agro-alimentari o per scopi legati alla salute pubblica, seguendo un approccio chiamato Gestione della Risorsa Microbica (Verstraete, 2007). Strategie di questo tipo sono state impiegate con successo in vari ambiti, come la gestione delle acque reflue o della prebiotica umana. L'applicazione di questo metodo per contrastare problematiche correlate agli insetti può fornire promettenti risultati, sia per il controllo di agenti dannosi sia per la protezione di insetti utili da malattie e stress (Crotti *et al.*, 2012), attraverso la creazione di protocolli di lotta, secondo la strategia detta **Controllo Simbiotico (CS)**. L'attività di controllo può essere basata sull'espressione da parte dei simbionti di fattori antagonistici, oppure sullo sbilanciamento delle popolazioni ad opera di manipolatori riproduttivi, o ancora sulla competizione tra simbionti e patogeni nel corpo dell'insetto vettore. I microrganismi in grado di svolgere un'attività di

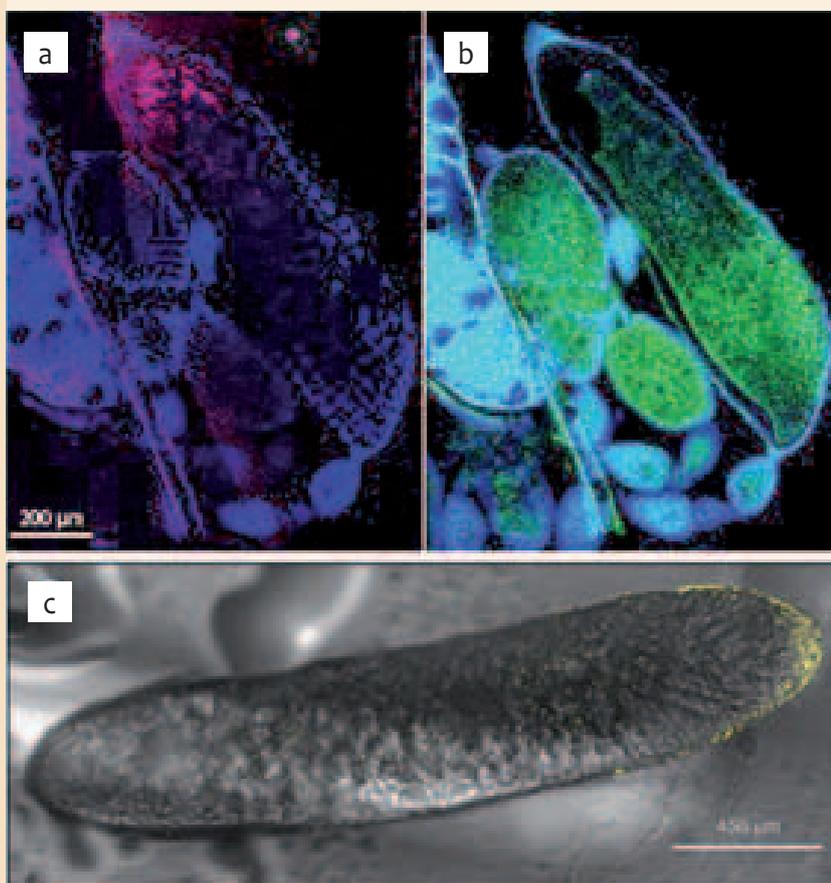
(A) - Sistemi di alimentazione utilizzati per la condivisione del substrato alimentare tra cicaline per la verifica della trasmissione orizzontale di *Cardinium*. a) camere di alimentazione su vite per la condivisione di una porzione di foglia tra *Scaphoideus titanus* ed *Empoasca vitis*; b, c) sistemi di alimentazione su dieta artificiale condivisa tra gruppi (b) o singoli individui (c) di *S. titanus* e *Macrostelus quadripunctulatus* (la dieta artificiale costituita da una soluzione zuccherina sterile è presente nel tappo delle provette)



controllo devono essere selezionati all'interno della comunità microbica naturale residente nell'insetto bersaglio (Alma et al., 2010). A tal fine, è necessaria la caratterizzazione molecolare della comunità microbica associata all'insetto, seguita dall'identificazione dei simbionti che presentino le caratteristiche necessarie per essere utilizzati come agenti di lotta e la valutazione dell'effettiva validità. Infine, devono essere considerati i rischi connessi al rilascio nell'ambiente di un agente di CS così individuato.

Nell'ambito della lotta alla FD, le possibilità applicative del CS sono state valutate tramite lo studio della comunità microbica associata a *S. titanus*. Tra i microrganismi dominanti sono stati osservati il **Bacteroidetes 'Candidatus Cardinium herzigii'** e il **batterio acetico *Asaia sp.*** (Marzorati et al., 2006). Il primo è noto per essere un manipolatore riproduttivo in diversi artropodi, tuttavia nessuna alterazione della riproduzione è stata individuata in *S. titanus*. Inoltre *Cardinium* è trasmesso verticalmente alla progenie, come dimostrato dal suo ritrovamento nei tessuti riproduttivi delle femmine della cicalina (Sacchi et al., 2008). Tale simbiote è presente anche in molti altri organi, tra cui le ghiandole salivari, ed è in grado di essere rilasciato nel mezzo alimentare e successivamente trasmesso ad altre cicaline tramite la vite, oppure mediante mezzi alimentari artificiali impiegati sperimentalmente (A). Tuttavia, altre caratteristiche di *Cardinium* come la sua non-coltivabilità con le conseguenti difficoltà di manipolazione e l'apparente assenza di alterazioni riproduttive nella cicalina lo rendono di

(B) - Trasmissione verticale di *Asaia* in *Scaphoideus titanus* tramite "egg smearing". Immagini di microscopia confocale in seguito a ibridazione in situ in fluorescenza (FISH) con sonde specifiche per *Asaia* (a, c) e universali (b) mostrano la presenza del batterio acetico e di altri simbionti nelle uova ovariche. Il fenomeno dell'"egg smearing" è evidenziato dalla presenza del segnale relativo ad *Asaia* sulla superficie dell'uovo (a, c). Modificato da Crotti et al., 2009; Alma et al., 2014



scarsa interesse pratico.

Il batterio acetico *Asaia* è al contrario un promettente candidato agente per il CS. Infatti, oltre a essere preponderante nel microbiota del cicadellide e a colonizzarne diversi organi, è trasmesso alla progenie (trasmissione verticale) tramite un fenomeno detto "egg smearing" (la contaminazione dell'uovo durante la maturazione nell'ovario, seguita dalla penetrazione al suo interno durante lo sviluppo embrionale) (Crotti et al., 2009) (B). Inoltre è capace di trasferirsi anche orizzontalmente tra individui che condividono il substrato alimentare o in seguito all'accoppiamento (Gonella et al., 2012). Infine, alcuni ceppi isolati da un determinato insetto possono colonizzare ospiti anche molto lontani filogeneticamente, dimostrandone l'estrema versatilità: infatti *Asaia* colonizza anche specie di interesse medico, come le zanzare dei generi *Aedes* e *Anopheles* (Crotti et al., 2009). Studi mirati a valutare la capacità di ceppi di *Asaia*, provenienti da ospiti diversi, di interferire con la trasmissione del fitoplasma in *S. titanus* sono attualmente in corso, al fine di sviluppare una effettiva strategia di contenimento della FD basata sull'impiego di simbionti, capace di integrarsi naturalmente con le attuali misure di lotta.

Considerazioni conclusive

Lo stato delle conoscenze su *S. titanus* ha fatto notevoli progressi nel corso degli ultimi 15 anni. Il miglioramento dei metodi di monitoraggio ha permesso l'identificazione dell'insetto vettore in zone dove inizialmente non era stato ancora segnalato, la diagnostica molecolare consente una rapida identificazione dei fitoplasmi nella cicalina, mentre la realizzazione di modelli previsionali è di supporto per la scelta del momen-

to migliore per i trattamenti insetticidi. La pericolosità delle zone con vite non gestite è stata confermata e implica che la lotta nei confronti di *S. titanus* debba passare anche da una corretta gestione dell'agroecosistema realizzata non a livello aziendale, ma di comprensorio. I metodi di lotta alternativi sono vari, alcuni sembrano promettenti mentre altri potrebbero non essere di facile applicazione o di comprovata efficacia. Tutto questo conferma l'estrema importanza della ricerca di base, che pur non aven-

do riscontri pratici immediati ha consentito, e potrebbe consentire in futuro, la messa a punto di strategie di lotta sempre più efficaci nei confronti del vettore della Flavescenza dorata.

Bibliografia disponibile su richiesta agli autori e sul sito viten.net

Alberto Alma, Federico Lessio, Elena Gonella, Luca Picciau
Università degli Studi di Torino, Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari (DISAFA), ULF Entomologia Generale e Applicata
alberto.alma@unito.it; federico.lessio@unito.it