

**INDAGINE PRELIMINARE SUGLI AUCHENORRINCHI
POTENZIALI VETTORI DI STOLBUR
IN UN'AREA VITICOLA DEL LAZIO**

B. Bagnoli, F. Pinzauti, V. Trivellone

C.R.A. - Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria
Via Lanciola, 12/A, I-50125 Firenze

I fitoplasmi appartenenti al sottogruppo ribosomale 16SrXII-A (Stolbur) sensu Lee *et al.*, (1998) risultano piuttosto ubiquitari e possono essere rilevati in un'ampia gamma di piante ospiti sia coltivate che spontanee. Il vettore accertato per la vite è *Hyalesthes obsoletus* Signoret (Maixiner, 1994; Sforza *et al.*, 1998; Alma *et al.*, 2002). In Italia questo cixiide trasmette il fitoplasma associato alla malattia del Legno Nero (LN), un'ampelopatia diffusa in quasi tutte le nostre aree viticole. Tuttavia un chiaro quadro epidemiologico della malattia non è stato ancora completamente definito, infatti mentre nella maggior parte dei casi il LN ha un andamento non particolarmente preoccupante, in altri si manifesta con sintomatologia severa ed estesa diffusione, anche là dove non risulti presente *H. obsoletus*.

Allo scopo di indagare il possibile ruolo di questo e di altri insetti nella trasmissione di LN, a partire dalla primavera 2004 abbiamo preso in esame la composizione dell'auchenorrhincofauna di un vigneto laziale di cv. "Chardonnay" ubicato nel comune di Cisterna di Latina (Latina). La presenza di LN nell'impianto era stata accertata dall'Istituto Sperimentale per la Patologia Vegetale di Roma fin dal 1999 (Pasquini, com. pers.). Le indagini sono state condotte utilizzando retino entomologico e trappole cromotropiche gialle disposte sia all'interno del vigneto che in una vignetta adiacente non sottoposta alle normali pratiche colturali e su una siepe di bordo lungo l'argine di un canale.

Nel 2004 sulle trappole cromotropiche, esclusa la sottofamiglia Typhlocybae, sono state individuate complessivamente 16 specie di omotteri auchenorrhinchi, di cui 11 nella vigna, 4 nella vignetta adiacente e 14 sulla vegetazione di bordo. Le specie più abbondanti sono risultate *Anoplotettix putoni* Ribaut nella vigna e nella vignetta, rispettivamente con il 49% e il 64% sul totale degli individui catturati, e *Philaenus spumarius* L. sul bordo con il 22%. Per accertare l'eventuale acquisizione di fitoplasmi da parte degli esemplari catturati, 27 di questi sono stati sottoposti a diagnosi molecolare, amplificando la regione ribosomale mediante i primer universali P1-P7 (Deng & Hiruki, 1991; Smart *et al.*, 1996) in PCR diretta, seguita da nested-PCR con i primer R16F2n/R2 (Gundersen-Rindal *et al.*, 1996) e 16R758F/M23Sr (Gibb *et al.*, 1995; Padovan *et al.*, 1995). Gli ampliconi ottenuti in nested-PCR sono stati sottoposti all'analisi del polimorfismo della lunghezza dei frammenti di restrizione (RFLP) utilizzando 3 differenti enzimi. L'esame ha evidenziato che 1 esemplare di

H. obsoletus, su 2 saggiati, è risultato positivo al fitoplasma associato a LN (16SrXII-A) e che 1 esemplare di *Thamnotettix zelleri* Kirschbaum, su 9 saggiati, è risultato positivo a un fitoplasma del sottogruppo 16SrI-C.

Per quanto riguarda il 2005, essendo le indagini ancora in corso, vengono qui riportati solo i dati relativi ai primi due rilievi (12 e 26 maggio) effettuati con retino entomologico. Dal primo campionamento è emerso che mentre su vite risultavano presenti solo tiflocibini, la vegetazione di bordo era interessata da una notevole presenza di adulti di *T. zelleri* (35 esemplari catturati) e di forme giovanili di *A. putoni* (55 esemplari catturati). Con il secondo campionamento si è potuto constatare, a conferma di quanto osservato l'anno precedente, che nell'ambiente considerato, i primi adulti di *A. putoni* si portano su vite a fine maggio. Dalle analisi molecolari condotte su singoli adulti sono risultati positivi al fitoplasma del sottogruppo 16SrXII-A 1 esemplare di *T. zelleri* su 10 saggiati e 1 di *A. putoni* su 34 saggiati.

Sebbene i risultati finora conseguiti non permettano di formulare ipotesi concrete sul ruolo svolto dagli auchenorrhinchi riscontrati nella trasmissione del fitoplasma associato a LN, le positività molecolari accertate a carico di *H. obsoletus*, *A. putoni* e *T. zelleri*, stimolano a sviluppare ricerche bio-eco-etologiche ed epidemiologiche su queste e altre specie presenti nell'ambiente.

Parole chiave: Auchenorrhinchi, Vettori, Legno Nero, Italia centrale.

Summary

Survey on Auchenorrhyncha potential vectors of Stolbur in a Latium vineyard

Phytoplasmas belonging to ribosomal subgroup 16SrXII-A (Stolbur) sensu Lee *et al.*, (1998) are rather ubiquitous and can be detected in a wide range of wild and cultivated plants. *Hyalesthes obsoletus* Signoret is confirmed as vector to grapevine (Maixiner, 1994; Sforza *et al.*, 1998, Alma *et al.*, 2002). In Italy, this planthopper transmits Bois noir (BN), a widespread grapevine yellow disease. However, the epidemiology of the disease has not been clearly established. Although BN is usually not particularly harmful to viticulture, it occasionally presents severe symptoms and wide distribution, even when *H. obsoletus* is not detected.

To investigate the possible role of this species and other insects in the transmission of BN, since spring 2004 we have studied the Auchenorrhyncha fauna of a "Chardonnay" vineyard near Cisterna di Latina (Latina, Latium). BN has been detected in this vineyard since 1999 by the Istituto Sperimentale per la Patologia Vegetale (Pasquini, pers. comm.). The survey has carried out using entomological net and yellow sticky traps set in the "Chardonnay" vineyard, in a nearby untended vineyard and in a hedge along a drainage canal.

In 2004 sixteen species of homoptera auchenorrhyncha, Typhlocybae excepted, were identified on yellow sticky traps: 11 in the “Chardonnay” vineyard, 4 in the small untended vineyard and 14 in the hedge. *Anoplotettix putoni* Ribaut was the most frequent species in both the “Chardonnay” vineyard and the untended vineyard, comprising 49% and 64% of all individuals respectively; *Philaenus spumarius* L. was the most frequent species in the hedge (22%). Twentyseven specimens were subjected to molecular analysis to check for phytoplasmas. The ribosomal DNA region was amplified by direct PCR, with the universal primer pair P1-P7 (Deng & Hiruki, 1991, Smart *et al.*, 1996), and by nested-PCR, with the inner primer pairs R16F2n/R2 (Gundersen-Rindal *et al.*, 1996) and 16R758F/M23Sr (Gibb *et al.*, 1995; Padovan *et al.*, 1995). RFLP analysis, using three restriction endonucleases in single enzyme digestions, was applied to the amplicons obtained by nested-PCR. One out of 2 *H. obsoletus* analyzed was positive to phytoplasma belonging to ribosomal subgroup 16SrXII-A and 1 out of 9 *Thamnotettix zelleri* Kirschbaum analyzed was positive to phytoplasma belonging to ribosomal subgroup 16SrI-C.

As regards 2005, investigations are still ongoing; only data concerning the first two collections carried out with the entomological net (12th and 26th May) are reported. From the first sampling it emerged that Typhlocybae were present on the vine only while the hedge was affected by a large number of *T. zelleri* adults (35 specimens captured) and *A. putoni* nymphs (55 specimens captured). The second sampling confirmed the observations of the year before according to which the first *A. putoni* adults move on the vine, in the environment considered, at the beginning of May. Molecular analyses performed on each single adult showed that 1 out of 10 *T. zelleri* and 1 out of 34 *A. putoni* specimens were positive for phytoplasma belonging to ribosomal subgroup 16SrXII-A.

Although results obtained do not allow to set up hypotheses on the role of Auchenorrhyncha in transmitting the phytoplasma associated to BN, molecular positivity found for *H. obsoletus*, *A. putoni* and *T. zelleri*, indicates that ecological and epidemiological research on these and other species should be developed.

Key words: Auchenorrhyncha, Vectors, Stolbur, Central Italy.

Lavori citati

- ALMA A., G. SOLDI, R. TEDESCHI, C. MARZACHI, 2002. Ruolo di *Hyalesthes obsoletus* Signoret (Homoptera Cixiidae) nella trasmissione del Legno Nero della vite in Italia. *Petria*, **12** (3), 411-412.
- DENG S., C. HIRUKI, 1991. Amplification of 16S rRNA genes from culturable and non culturable Mollicutes. *Journal of Microbiological Methods*, **14**, 53-61.

- GIBB K.S., A.C. PADOVAN, B.D. MOGEN, 1995. Studies on sweet potato little-leaf phytoplasma detected in sweet potato and other plant species growing in northern Australia. *Phytopathology*, **85** (2), 169-174.
- GUNDERSEN-RINDAL D.E., I.-M. LEE, 1996. Ultrasensitive detection of phytoplasmas by nested-PCR assays using two universal primer pairs. *Phytopathologia Mediterranea*, **35**, 144-151.
- LEE I.-M., D.E. GUNDERSEN-RINDAL, R.E. DAVIS, I.M. BARTOSZYK, 1998. Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **48**, 1153-1169.
- MAIXNER M., 1994. Transmission of German grapevine yellows (Vergilbungskrankheit) by the planthopper *Hyalesthes obsoletus* (Auchenorrhyncha: Cixiidae). *Vitis*, **33**, 103-104.
- PADOVAN A.C., K.S. GIBB, A. BERTACCINI, M. VIBIO, R.G. BONFIGLIOLI, P.A. MAGAREY, B.B. SEARS, 1995. Molecular detection of Australian grapevine yellows phytoplasma and comparison with grapevine yellows phytoplasmas from Italy. *Australian Journal Grape Wine Research*, **1**, 25-31.
- SFORZA R., D. CLAIR, X. DAIRE, J. LARRUE, E. BOUDON-PADIEU, 1998. The role of *Hyalesthes obsoletus* (Hemiptera:Cixiidae) in the occurrence of Bois noir of grapevine in France. *Journal of Phytopathology*, **146**, 549-556.
- SMART C.D., B. SCHNEIDER, C.L. BLOMQUIST, L.J. GUERRA, N.A. HARRISON, U. AHRENS, K.H. LORENZ, E. SEEMÜLLER, B.C. KIRCKPATRICK, 1996. Phytoplasma-specific PCR primers based on sequences of 16S-23S rRNA spacer region. *Applied and Environmental Microbiology*, **62** (8), 2988-2993.

Lavoro svolto nell'ambito del P.F. "I giallumi della vite" finanziato dal Ministero delle Politiche Agricole e Forestali.