

SCOPAZZI DEL MELO

STATO ATTUALE DELLA RICERCA

APFELTRIEBSUCHT

AKTUELLER STAND DER FORSCHUNG

A cura di // Herausgegeben von

KATRIN JANIK

DANA BARTHEL

TIZIANA OPPEDISANO

GIANFRANCO ANFORA



FONDAZIONE
EDMUND MACH



Versuchszentrum
Centro di Sperimentazione
Research Centre

LAIBURG
NATURE & SCIENCE: HAND IN HAND

SCOPAZZI DEL MELO

STATO ATTUALE DELLA RICERCA

APFELTRIEBSUCHT

AKTUELLER STAND DER FORSCHUNG

A cura di // Herausgegeben von

KATRIN JANIK

DANA BARTHEL

TIZIANA OPPEDISANO

GIANFRANCO ANFORA



FONDAZIONE
EDMUND MACH



NATURE & SCIENCE: HAND IN HAND

Scopazzi del melo : stato attuale della ricerca = Apfeltriebsucht : aktueller Stand der Forschung / a cura di = herausgegeben von Katrin Janik ... [et al.]. - San Michele all'Adige (TN) : Fondazione Edmund Mach ; Laimburg : Ora (BZ) : Centro di Sperimentazione Laimburg, 2020. - 153 p. : i ll., tab. ; 26 cm.

ISBN: 9788878430532

1. Melo - Malattie da fitoplasmi I. Janik, Katrin II. Fondazione Edmund Mach III. Centro di sperimentazione Laimburg 634.11932

Il presente lavoro è stato svolto nell'ambito dei progetti APPL2.0, APPLClust, APPLIII e SCOPAZZI_FEM ed è stato finanziato dalla Provincia Autonoma di Bolzano - Alto Adige, dal Consorzio Mele Alto Adige e dall'Associazione Produttori Ortofrutticoli Trentini (APOT). // Die Arbeiten wurden im Rahmen der Projekte APPL2.0, APPLClust, APPLIII und SCOPAZZI-FEM durchgeführt und von der Autonomen Provinz Bozen - Südtirol, Italien, dem Südtiroler Apfelkonsortium und dem Verband der Obst- und Gemüseerzeuger im Trentino (APOT) finanziert.



SCOPAZZI DEL MELO - STATO ATTUALE DELLA RICERCA APFELTRIEBSUCHT - AKTUELLER STAND DER FORSCHUNG

© 2020 Fondazione Edmund Mach, Via E. Mach 1, 38098 San Michele all'Adige (TN) - Centro di Sperimentazione Laimburg/Versuchszentrum Laimburg, Laimburg 6, 39040 Ora/Auer (BZ).

È vietata la riproduzione con qualsiasi mezzo essa venga effettuata.

TESTI // TEXTE

Dana Barthel, Stefanie Fischnaller, Thomas Letschka, Katrin Janik, Cecilia Mittelberger, Sabine Öttl, Bernd Panassiti - Centro di Sperimentazione Laimburg, Ora (Italia) // Versuchszentrum Laimburg, Auer (Italien)

Gino Angeli, Mario Baldessari, Pier Luigi Bianchedi, Andrea Campisano, Laura Tiziana Covelli, Gastone Dallago, Claudio Ioriatti, Valerio Mazzoni, Mirko Moser, Federico Pedrazzoli, Omar Rota-Stabelli, Tobias Weil - Fondazione Edmund Mach, San Michele all'Adige (Italia) // Fondazione Edmund Mach, San Michele all'Adige (Italien)

Tiziana Oppedisano - Fondazione Edmund Mach, San Michele all'Adige (Italia) / Università degli Studi del Molise // Fondazione Edmund Mach, San Michele all'Adige (Italien) / Università degli Studi del Molise (Italien)

Gianfranco Anfora - Centro Agricoltura Alimenti Ambiente (C3A), Università degli Studi di Trento / Centro Ricerca e Innovazione, Fondazione Edmund Mach, San Michele all'Adige (Italia) // Centro Agricoltura Alimenti Ambiente (C3A), Università degli Studi di Trento, San Michele all'Adige (Italien) / Centro Ricerca e Innovazione, Fondazione Edmund Mach, San Michele all'Adige (Italien)

Wolfgang Jarausch - AlPlanta, Neustadt an der Weinstraße (Germania) // AlPlanta, Neustadt an der Weinstraße (Deutschland)

Josef Österreicher, Michael Unterthurner - Centro di consulenza per la frutticoltura dell'Alto Adige, Lana-BZ (Italia) // Südtiroler Beratungsring für Obst- und Weinbau, Lana-BZ (Italien)

Wolfgang Schweigkofler - Dominican University of California, San Rafael California (USA) // Dominican University of California, San Rafael, Kalifornien (USA)

Rosemarie Tedeschi - DISAFA - Università degli Studi di Torino, Torino (Italia) // DISAFA Università degli Studi di Torino, Turin (Italien)

Hannes Schuler - Libera Università di Bozen-Bolzano, Bolzano (Italia) // Freie Universität Bozen, Bozen (Italien)

CURA E REVISIONE TESTI // BETREUUNG DER TEXTERSTELLUNG UND REVISION

Katrin Janik, Dana Barthel, Tiziana Oppedisano, Gianfranco Anfora

TRADUZIONI // ÜBERSETZUNG

(EN>IT) Mattia Tabarelli, Tiziana Oppedisano

(EN>DE) Studio Traduc - Bolzano (Claudia Lenz), Dana Barthel, Katrin Janik

COORDINAMENTO EDITORIALE // REDAKTIONELLE KOORDINATION

Erica Candioli

REALIZZAZIONE GRAFICA ESECUTIVA // GRAFISCHE UMSETZUNG

IDESIA - www.idesia.it



1

PIANTE OSPITI DEL FITOPLASMA DEGLI SCOPAZZI DEL MELO

PFLANZLICHE WIRTE DER APFELTRIEBSUCHT

Dana Barthel, Pier Luigi Bianchedi,
Andrea Campisano, Laura Tiziana Covelli,
Gastone Dallago, Claudio Ioriatti,
Wolfgang Jarausch, Thomas Letschka,
Cecilia Mittelberger, Mirko Moser, Sabine Öttl,
Josef Österreicher, Wolfgang Schweigkofler,
Rosemarie Tedeschi, Michael Unterthumer,
Katrin Janik

Distribuzione geografica e impatto dell'AP nelle regioni europee coltivate a melo

Germania

La malattia degli scopazzi del melo risulta descritta nella Germania meridionale già negli anni '50 (Kunze 1989). Per molto tempo si è pensato che la fascia settentrionale di distribuzione dell'AP attraversasse la Germania da Bonn, a ovest, alla Turingia, a est (Kunze 1989). Nel 1995, è stata rilevata la presenza di '*Ca. P. mali*' nella cicalina *F. florii* nella Germania del Sud (Bliefernicht e Krczal 1995) e nel 1998, Seemüller *et al.* hanno pubblicato una prima analisi relativa alla presenza di AP in Germania, basata sulla rilevazione tramite PCR del patogeno, estendendo la diffusione nella fascia settentrionale dell'AP in Germania a Ibbenbüren nel Nord Reno-Westfalia, non lontano dal confine olandese (Fig. 2). Questi autori non sono stati in grado di confermare l'infezione da AP nell'importante regione melicola di "Altes Land" vicino ad Amburgo. Negli anni passati, tuttavia, l'AP si è diffusa anche in questa regione, diventando anche lì una preoccupazione crescente (Weber e Zahn 2013). Nel 2004, l'AP è stata rilevata per la prima volta in Sassonia (Germania orientale) e un'indagine condotta dal 2008 al 2010 ha mostrato un'incidenza della malattia fino al 36 % nei frutteti di 15-20 anni (Herzog *et al.* 2012). Storicamente, la principale distribuzione dell'AP - accompagnata dalle maggiori perdite economiche - si

Geografische Verteilung und Auswirkungen von AP in europäischen Apfelanbaugebieten

Deutschland

Die Apfeltriebsucht wurde in Süddeutschland bereits in den 1950er-Jahren beschrieben (Kunze 1989). Lange Zeit ging man davon aus, dass die nördliche Ausbreitung der Apfeltriebsucht in Deutschland von Bonn im Westen bis Thüringen im Osten reichte (Kunze 1989). Im Jahr 1995 wurde in Süddeutschland '*Candidatus Phytoplasma mali*' in *Flaviella florii* detektiert (Bliefernicht und Krczal 1995). Drei Jahre später, im Jahr 1998, veröffentlichten Seemüller *et al.* eine erste Untersuchung über die Apfeltriebsucht in Deutschland, die auf dem PCR-Nachweis des Pathogens basierte. Sie konnten einen AP-Befall bis nach Ibbenbüren in Nordrhein-Westfalen unweit der niederländischen Grenze nachweisen (Abb. 2). Einen Befall in der bedeutenden Apfelanbauregion „Altes Land“ bei Hamburg konnte die Autoren jedoch nicht bestätigen. In den letzten Jahren gibt die Ausbreitung der Apfeltriebsucht auch in dieser Region erheblichen Anlass zur Sorge (Weber und Zahn 2013). Im Jahr 2004 wurde AP erstmals in Sachsen nachgewiesen. Eine Studie, die von 2008 bis 2010 durchgeführt wurde, ergab einen Befall von 36 % in 15 bis 20 Jahre alten Obstanlagen (Herzog *et al.* 2012). Historisch gesehen, tritt AP hauptsächlich in den klimatisch wärmeren, südwestlichen Regionen Deutschlands



Figura 2

La Germania e i suoi stati federali; gli stati federali mostrati in blu sono interessati dagli scopazzi del melo

trova nelle regioni sud-occidentali della Germania con un clima più caldo, principalmente nella Rhineland-Palatinate e Baden-Württemberg (Kunze 1989; Seemüller *et al.* 1998; Jarausch 2007; Jarausch *et al.* 2007; 2011a). Un'indagine condotta nel 2005 e nel 2006 ha rivelato tassi di infezione fino al 57 % degli alberi per frutteto (Jarausch 2007). In alcuni

auf, nämlich in Rheinland-Pfalz und Baden-Württemberg (Kunze 1989; Seemüller *et al.* 1998; Jarausch 2007; Jarausch *et al.* 2007; 2011a). In diesen Regionen führte sie auch zu den höchsten wirtschaftlichen Einbußen. Eine in den Jahren 2005 und 2006 durchgeführte Untersuchung ergab eine Infektionsrate von bis zu 57 % pro Obstanlage



Abbildung 2

Deutschland und seine Bundesländer; die in blau dargestellten Bundesländer sind von der Apfeltriebsucht betroffen

frutteti abbandonati sono stati riportati tassi di infezione superiori al 75 % (Jarausch *et al.* 2011a). I risultati di queste analisi indicano che l'AP è diffuso in Germania, comprese le regioni settentrionali, orientali e meridionali. I dati di Seemüller *et al.* (1998) hanno dimostrato che l'AP non solo è presente nei frutteti commerciali ma è anche ampiamente distribuita in frutteti a bassa intensità o sparsi, inoltre, gli alberi infetti in questi frutteti parzialmente abbandonati sono considerati un importante serbatoio dell'infezione. L'AP è considerata una delle più rilevanti malattie del melo nella Germania sud-occidentale, anche se mancano dati relativi alla perdita di rendimento.

Italia del Nord - Alto Adige, Trentino, Piemonte e Valle d'Aosta

Alla fine degli anni '50 e all'inizio degli anni '60, in Alto Adige furono riportati i primi casi di AP (Fig. 3) (Österreicher e Thomann 2003, 2015a). Da quel periodo, gli alberi sintomatici, su portainnesti dalla crescita vigorosa, cominciarono a fare la loro comparsa con regolarità anche se ancora sporadicamente. Nel 1998, sono stati segnalati i primi casi di alberi colpiti su portainnesti M9 in Valle Isarco e sono stati documentati un numero maggiore di alberi sintomatici. Nei due anni successivi la malattia è stata segnalata in tutti i distretti coltivati a melo dell'Alto Adige, tuttavia le aree del Burgraviato e della Val Venosta sono state molto colpite, mentre in altri distretti sono stati riscontrati

.....

(Jarausch 2007). In einigen aufgelassenen Anlagen wurden Infektionsraten von über 75 % gemeldet (Jarausch *et al.* 2011a). Die Ergebnisse dieser Studien zeigen, dass AP in Deutschland weitverbreitet ist. Die Daten von Seemüller *et al.* (1998) haben gezeigt, dass AP nicht nur in kommerziellen, sondern auch in extensiv bewirtschafteten Obstanlagen oder Streuobstwiesen vorkommt. Infizierte Bäume aus jenen Anlagen sind ernst zu nehmende Infektionsherde. AP gilt als eine der schwerwiegendsten Apfelkrankheiten im Südwesten Deutschlands, obwohl umfangreiche Daten zu Ertragsverlusten fehlen.

Norditalien - Tirol, Trentino, Piemont und Aostatal

In den späten 1950er und frühen 1960er-Jahren wurden in Südtirol erste Fälle von AP gemeldet (Österreicher und Thomann 2003, 2015a) (Abb. 3). Seitdem traten sporadisch symptomatische Bäume auf starkwüchsigen Unterlagen auf. Im Jahr 1998 wurden erste Fälle von infizierten Bäumen auf schwachwüchsigen M9-Unterlagen im Eisacktal gemeldet und eine erhöhte Anzahl symptomatischer Bäume wurde dokumentiert. Innerhalb der folgenden zwei Jahre wurde die Krankheit in allen Apfelanbaugebieten Südtirols gemeldet, jedoch waren die Gebiete Burggrafenamt und Vinschgau besonders stark betroffen. In anderen Gebieten wurden die meisten Fälle in Bergregionen festgestellt. In einigen Apfelanlagen mit starkwüchsigen Unterlagen waren etwa 60 % der Bäume betroffen, während der Befall in Apfelanlagen



Figura 3
 Regione autonoma del Trentino-Alto Adige (Italia); i distretti e le aree indicate in blu sono interessati da AP

molti casi anche in collina. In alcuni frutteti, sono stati colpiti circa il 60 % degli alberi su portainnesti vigorosi, mentre non sono stati colpiti i frutteti con piante su portainnesti M9 nanizzanti (circa il 5 %) e negli anni successivi il numero di alberi sintomatici è diminuito (Österreicher e Thomann 2015a). Il primo focolaio grave di AP coincise con alte

mit M9-Unterlagen etwa 5 % geringer war. Dieser erste schwere Ausbruch der Apfeltriebsucht fiel mit einer hohen Dichte von *Cacopsylla melanoneura* zusammen; 1994 wurde dieses Insekt verstärkt im Eisacktal und Ende der 90er-Jahre im Vinschgau gefunden. 2001 wurden in Apfelanlagen in den höher gelegenen Anbaugebieten bis zu 70



Abbildung 3
 Autonome Region Trentino-Südtirol (Italien). Die in blau dargestellten Regionen und Gebiete sind von der Apfeltriebsucht betroffen

densità di *C. melanoneura*; nel 1994 alte densità di questo insetto sono state trovate in Valle Isarco e, alla fine degli anni '90, in Val Venosta. Nel 2001, in terreni collinari, sono stati trovati fino a 70 individui di *C. melanoneura* per branca del melo, ma circa quattro volte meno nei frutteti situati nelle valli (Österreicher e Thomann 2003). A partire da quell'anno, in Alto Adige, furono prese delle misure contro la *C. melanoneura* e la densità di questo psilide fu ridotta drasticamente, con il risultato che nel 2005 questo insetto si trovava in media in un albero su due (Österreicher e Thomann 2015a).

Nel 2004 la manifestazione della malattia è aumentata in diversi frutteti e l'anno successivo gli scopazzi sono tornati ad essere una preoccupazione in Alto Adige. Nel 2006, sono stati identificati alberi sintomatici in circa il 75 % dei frutteti monitorati (Fig. 4). Tuttavia, il problema non era equamente distribuito: mentre la Valle Isarco non ne era affatto interessata, i numeri dei nuovi casi segnalati in Val Venosta, Burgraviato e Val d'Adige erano in aumento (Österreicher e Thomann 2003, 2015a).

Nel 2004, sono stati segnalati in Alto Adige i primi esemplari di *C. picta* e questo vettore è stato trovato negli anni successivi in tutte le principali regioni di coltivazione del melo in Alto Adige ma non in Valle Isarco (Wolf e Zelger 2006). Le più alte densità di questo insetto sono state trovate in Val Venosta, Burgraviato e Val d'Adige; quindi, in aggiunta ai trattamenti contro la *C. melanoneura*, nel 2006,

Exemplare *C. melanoneura* pro Ast gefunden, aber etwa viermal weniger Individuen in Obstanlagen in den Tälern (Österreicher und Thomann 2003). Von diesem Jahr an wurden in Südtirol phytosanitäre Maßnahmen gegen *C. melanoneura* ergriffen und die Dichte dieser Psylliden drastisch reduziert, sodass 2005 dieses Insekt im Durchschnitt nur noch an jedem zweiten Baum gefunden wurde (Österreicher und Thomann 2015a). In den Folgejahren ging die Zahl der symptomatischen Bäume zurück (Österreicher und Thomann 2015a). Ab 2004 stieg der AP-Befall in mehreren Obstanlagen wieder an. Im darauffolgenden Jahr trat die Apfeltriebsucht erneut in ganz Südtirol auf. Im Jahr 2006 wurden symptomatische Bäume in etwa 75 % der überwachten Obstanlagen gefunden (Abb. 4). Das Problem verteilte sich jedoch nicht gleichmäßig: Während das Eisacktal kaum betroffen war, nahm im Vinschgau, Burggrafenamt und Etschtal die Zahl der neu gemeldeten Fälle zu (Österreicher und Thomann 2003, 2015a). Das Auftreten erster *Cacopsylla picta* Individuen in Südtirol wurde 2004 gemeldet, und in den folgenden Jahren in gesamt Südtirol, mit Ausnahme des Eisacktals, bestätigt (Wolf und Zelger 2006). Die höchsten Dichten dieses Insekts traten im Vinschgau, Burggrafenamt und im Etschtal auf; so wurden 2006 die phytosanitären Maßnahmen auch auf *C. picta* ausgeweitet. In den folgenden Jahren konnte dadurch die Dichte der Überträgerinsekten stark verringert werden (Österreicher und Thomann 2015a; Mittelberger *et al.* 2016).

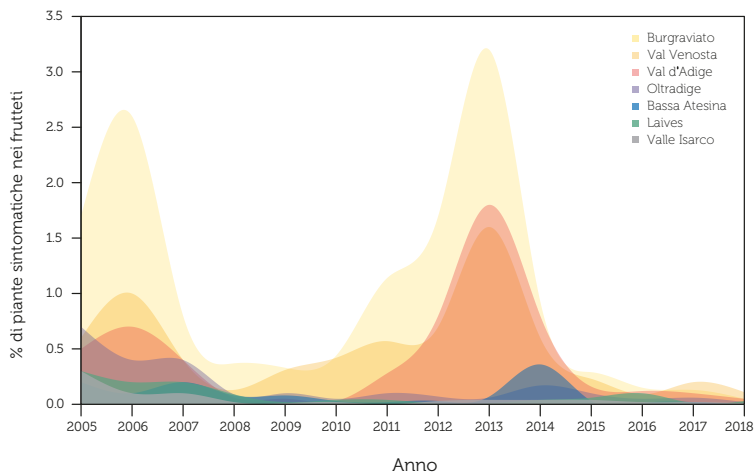


Figura 4
Infestazione di AP nelle comunità comprensoriali dell'Alto Adige coltivate a melo

la gestione dei vettori è stata estesa anche alla *C. picta* e negli anni successivi la densità di tali vettori è diminuita (Österreicher e Thomann 2015a; Mittelberger *et al.* 2016).

Dopo alcuni anni di relativo sollievo, la manifestazione della malattia è aumentata nuovamente a partire dalla Val Venosta e Burgraviato, con un picco nel 2013. È interessante notare che altre regioni come la Valle Isarco ne sono rimaste interessate solo in parte o per nulla (Österreicher e Unterthurner 2014). Nei due anni di picco, il

Nach einigen Jahren mit geringem AP-Befall breitete sich die Krankheit vom Vinschgau und Burggrafenamt ausgehend wieder aus und erreichte 2013 einen erneuten Höhepunkt. Interessanterweise blieben andere Regionen wie das Eisacktal weitgehend verschont (Österreicher und Unterthurner 2014). In beiden „Spitzenjahren“ 2006 und 2013 führte die Apfelfriebsucht in Südtirol zu einem wirtschaftlichen Gesamtschaden von rund 50 Mio. Euro (Österreicher und Thomann 2015b).

In den Jahren 2014 bis 2018 verbesserte sich die Situation und es wur-

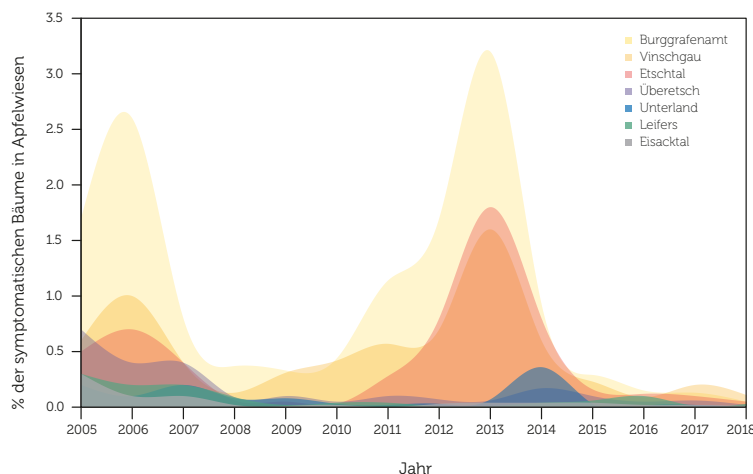


Abbildung 4
AP Befall in den Bezirksgemeinschaften Südtirols mit Apfelanbau

2006 e il 2013, gli scopazzi del melo hanno causato in Alto Adige un danno economico totale di circa 50 milioni di euro (Österreicher e Thomann 2015b).

Nel 2014 fino al 2018 la situazione è migliorata, con meno dell'1 % di alberi sintomatici nei frutteti (Fig. 4). Grazie alla strategia di controllo applicata, le densità di *C. picta* e *C. melanoneura* sono diminuite dal 2012 al 2014 in tutte le regioni monitorate dell'Alto Adige (Mittelberger *et al.* 2016). Fischnaller *et al.* (2017) hanno confermato questa tendenza anche per gli anni che vanno dal 2014 fino al 2016.

In Trentino (Fig. 3), il primo report di meli infetti da AP risale ai primi anni '50 (Refatti e Ciferri 1954), ma la malattia è apparsa piuttosto sporadica fino all'inizio degli anni '90, quando è stato segnalato un focolaio di tale malattia che ha causato danni economici significativi (Vindimian *et al.* 2002), soprattutto in Val di Non (Vindimian e Delaiti 1996).

Al fine di quantificare la diffusione della malattia e di comprenderne i fattori predisponenti, i coltivatori della Val di Non hanno effettuato un'indagine sugli alberi infetti nel 1999 e nel 2000 (Brunelli e Canova 2002). Il numero di alberi sottoposti a controllo è stato di 4,9 e 6,8 milioni, rispettivamente il 65 % e il 91 % del patrimonio di meli di quel distretto di coltivazione della mela (Val di Non). Il tasso medio di infezione è aumentato dallo 0,8 all'1,7 %. In generale, il tasso di infezione era più alto alle altitudini più elevate e nei frutteti più vecchi su portainnesti più vigorosi. Tuttavia, sono stati trovati circa il 5-10 % degli alberi

den weniger als 1 % erkrankte Bäume in den Obstbaubetrieben gezählt (Abb. 4). Aufgrund der verstärkten Bekämpfungsstrategie nahm die Dichte von *C. picta* und *C. melanoneura* in den Jahren 2012 bis 2014 in allen Regionen Südtirols ab (Mittelberger *et al.* 2016). Dieser Trend setzte sich in den Jahren 2014 bis 2016 fort (Fischnaller *et al.* 2017).

Im Trentino (Abb. 3) reicht der erste Bericht über AP befallene Bäume in die frühen 1950er-Jahre zurück; die Krankheit trat jedoch nur sporadisch auf (Refatti und Ciferri 1954). In den frühen 1990er-Jahren kam es zu einem starken Ausbruch der Apfeltriebsucht, der vor allem im Nonstal zu erheblichen wirtschaftlichen Einbußen führte (Vindimian und Delaiti 1996; Vindimian *et al.* 2002).

Um das Ausmaß der Ausbreitung zu bestimmen und Faktoren zu identifizieren, die die Krankheitsausbreitung begünstigen, führten die Landwirte im Nonstal in den Jahren 1999 und 2000 eine großflächige Untersuchung durch (Springhetti *et al.* 2002). Dabei wurden 4,9 bzw. 6,8 Millionen Bäume auf AP-Symptome kontrolliert, d. h. 65 % bzw. 91 % des Apfelbaumbestands des Nonstals. Die durchschnittliche Infektionsrate stieg von 0,8 % im Jahr 1999 auf 1,7 % im Folgejahr. Im Allgemeinen war die Infektionsrate in höheren Lagen und in älteren Obstanlagen auf starkwüchsigen Unterlagen höher. Etwa 5 bis 10 % der infizierten Bäume wurden in zweijährigen Obstanlagen und bis zu 20 % in etwa dreijährigen Obstanlagen gefunden. Seit 2001 führt das Pflanzenschutzamt der Provinz Trient ein offiziel-

infetti in frutteti di due anni e fino al 20 % in alcuni frutteti di tre anni. Dal 2001, l'Ufficio fitosanitario della provincia di Trento ha svolto un'attività di monitoraggio ufficiale. L'indagine è stata estesa all'intera area di coltivazione del melo della provincia e sono stati analizzati i potenziali effetti di misure agronomiche differenziate, attività colturali o altitudini diverse (Vindimian 2002). La percentuale media di alberi infetti variava dal 2,5 al 2,9 % fino al 2005. Durante questo periodo, la percentuale più elevata di alberi infetti è stata segnalata per i siti collinari della provincia (Val di Non) la cui l'area di coltivazione a melo rappresenta quasi il 60 % dell'area melicola totale della provincia di Trento. In questo distretto, l'incidenza media della malattia ha raggiunto il 5,5 %, ma alcuni vecchi frutteti coltivati su portainnesti vigorosi hanno mostrato fino al 70 % di alberi infetti. Il tasso di infezione è rapidamente diminuito quando l'estirpo degli alberi infetti è diventato obbligatorio e, nel 2006, sono state attivate misure di controllo chimico contro gli insetti vettori. L'implementazione delle azioni di controllo raccomandate è stata promossa concedendo ai coltivatori un sussidio per l'espianto dei frutteti di età superiore ai 20 anni o di frutteti con oltre il 20 % di alberi infetti.

La percentuale media di alberi infetti è costantemente diminuita durante il programma di espianto sovvenzionato, ovvero dal 2006 al 2010, quando ha raggiunto il tasso più basso, arrivando allo 0,27 %. Il tasso di infezione ha iniziato a salire nel 2012, in modo più significa-

.....

les Monitoring durch. Die Untersuchung wurde auf das gesamte Apfelanbaugebiet der Provinz ausgeweitet und der Effekt unterschiedlicher landwirtschaftlicher Maßnahmen, der Sorte sowie der Höhenlage analysiert (Vindimian 2002). Bis 2005 lag der durchschnittliche Prozentsatz der infizierten Bäume zwischen 2,5 bis 2,9 %. Der höchste Prozentsatz an infizierten Bäumen wurden in den Bergregionen im Nonstal gemeldet, dessen Apfelanbaufläche fast 60 % der gesamten Apfelerzeugung der Provinz Trient ausmacht. In diesem Bezirk lag der durchschnittliche Befall bei maximal 5,5 %. Einige ältere Obstanlagen, in denen starkwüchsige Unterlagen verwendet wurden, wiesen einen Befall von bis zu 70 % auf. Die Infektionsrate ging schnell zurück, als die Rodung infizierter Bäume verpflichtend wurde und ab dem Jahr 2006 Insektizide gegen die Überträgerinsekten eingesetzt wurden. Zusätzlich wurde die Rodung durch eine Rodungsbeihilfe gefördert, welche für Bäume mit einem Alter von über 20 Jahren oder für Bäume aus Anlagen mit einem Befall von über 20 % gezahlt wurde.

Im Verlauf dieses subventionierten Rodungsprogramms, welches von 2006 bis 2010 lief, sank der durchschnittliche Prozentsatz der infizierten Bäume kontinuierlich und erreichte 2010 die niedrigste Rate von 0,27 %. Die Infektionsrate stieg 2012 erneut an, vor allem im Etschtal und in der Valsugana, Regionen, die 30 % der gesamten Apfelanbaufläche der Provinz Trient ausmachen. Dort stieg die durchschnittliche Infektionsrate im Jahr 2014 auf 6 % wodurch sich die durchschnittliche

tivo in Val d'Adige e in Valsugana, regioni che rappresentano il 30 % dell'area totale di coltivazione a mele nella provincia. In questi due distretti, il tasso medio di infezione è salito al 6 % nel 2014, spingendo il tasso medio di infezione della Provincia di Trento al 2 %.

Nell'Italia nord-occidentale (Fig. 5), l'AP è stata registrata in due regioni di coltivazione del melo, il Piemonte e la Valle d'Aosta, dove alla fine degli anni '90 e nei primi anni del 2000 si è verificata una grave epidemia. In Piemonte, i territori dell'Alto Canavese (Provincia di Torino) sono i focolai storici della malattia. Nell'Alto Canavese, le cultivar tipiche della zona vengono coltivate con tecniche di agricoltura biologica e integrata. La produzione di mele è principalmente per il mercato locale. Alcune rilevazioni di infestazioni da AP si sono verificate anche in località della Provincia di Torino e della Provincia di Cuneo, aree caratterizzate da una coltivazione a melo più intensiva. Tuttavia, i focolai di AP erano piuttosto sporadici e non gravi (Minucci *et al.* 1996; Alma *et al.* 2000; Pinna *et al.* 2003; Spagnolo *et al.* 2005). Invece, in Valle d'Aosta, l'AP si è diffusa rappresentando una seria minaccia a partire dagli anni '90, soprattutto nei frutteti più vecchi. In questa regione l'incidenza della malattia ha raggiunto il 100 % in alcuni frutteti (Tedeschi *et al.* 2002; 2003). A seguito di un decreto ministeriale del 2006, che imponeva misure di controllo contro l'AP (Ministero delle Politiche e Agricole Forestali 2006), è stato attuato un programma di igiene ambientale. Gli alberi sarebbero dovuti essere ispezionati con

Infektionsrate in der Provinz Trient auf 2 % erhöhte.

Im Nordwesten Italiens (Abb. 5) wurde AP in zwei Apfelanbaugebieten registriert, dem Piemont und dem Aostatal, wo Ende der 90er-Jahre und in den ersten Jahren der 2000er eine schwere Epidemie auftrat. Im Piemont sind die Gebiete von Alto Canavese (Provinz Turin) die historisch gesehen am stärksten betroffenen Zonen. In Alto Canavese werden für die Region typische Apfelsorten in biologischer und auch in integrierter Anbauweise kultiviert. Die Apfelproduktion ist hauptsächlich für den lokalen Markt bestimmt. Einige Meldungen über einen AP-Befall gab es auch aus Orten der Provinz Turin und der Provinz Cuneo, Regionen mit verstärktem Apfelanbau. In diesen Gebieten trat der Befall jedoch relativ selten und nicht schwerwiegend auf (Minucci *et al.* 1996; Alma *et al.* 2000; Pinna *et al.* 2003; Spagnolo *et al.* 2005).

Im Aostatal ist die Apfeltriebsucht weit verbreitet und stellt seit den 1990er-Jahren eine ernsthafte Bedrohung vor allem in älteren Obstanlagen dar. In diesen Regionen waren in manchen Obstanlagen 100 % der Bäume befallen (Tedeschi *et al.* 2002; Tedeschi *et al.* 2003). Nach einem Ministerialdekret von 2006 wurde die obligatorische Bekämpfung der Apfeltriebsucht vorgeschrieben und ein entsprechendes Programm zur Eindämmung der Krankheit verabschiedet (Ministero delle Politiche Agricole e Forestali 2006). Bäume müssen seitdem regelmäßig auf das Auftreten typischer Symptome untersucht und erkrankte Bäume gerodet werden. Wies eine Anlage eine

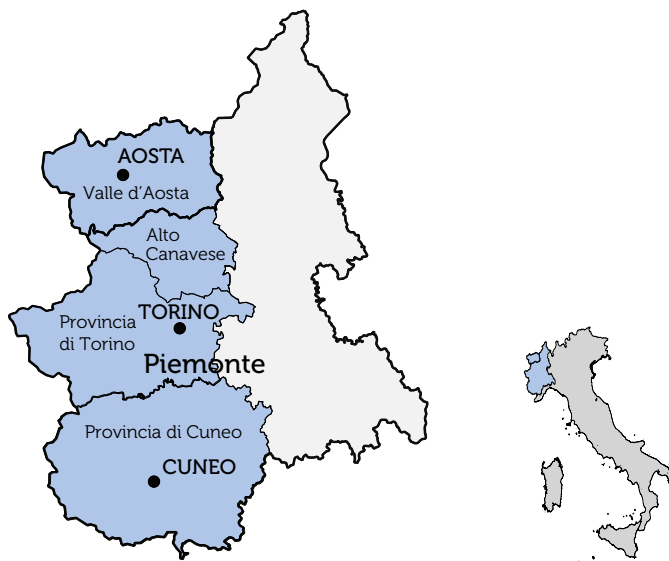


Figura 5
 Regione autonoma della Valle d'Aosta e Piemonte; i distretti indicati in blu sono interessati da AP

regolarità relativamente alla presenza dei sintomi tipici di AP procedendo poi alla rimozione degli alberi infetti. Inoltre, l'intero frutteto doveva essere sradicato nel caso in cui fosse stata rilevata un'infezione con un tasso superiore al 25 %. Come conseguenza, la diffusione dell'AP è diminuita, ma vengono costantemente effettuate indagini e vengono prescritti trattamenti contro i vettori in entrambe le regioni.

Infektionsrate von über 25 % auf, musste die gesamte Obstanlage gerodet werden. Infolge dieser Maßnahmen nahm die Verbreitung der AP in den betroffenen Gebieten ab, allerdings werden ständig Befallerhebungen durchgeführt und Maßnahmen zur Bekämpfung der Vektoren sind in beiden Regionen vorgeschrieben.

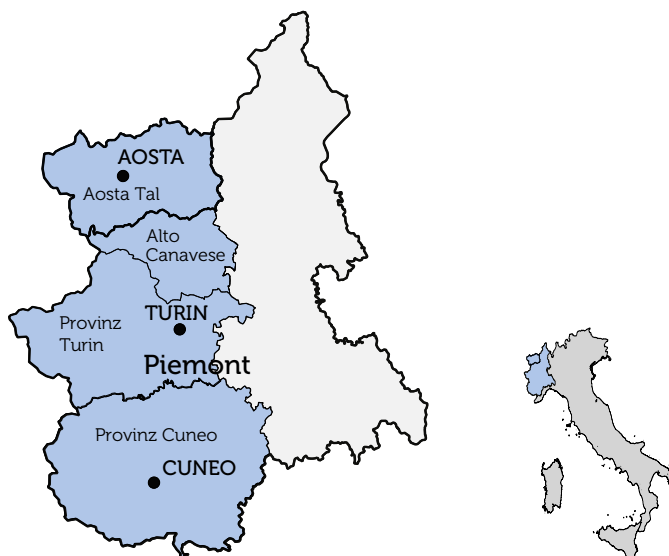


Abbildung 5
 Autonome Region Aostatal und Region Piemont; die blau markierten Gebiete sind von AP betroffen

Apple proliferation in altre regioni europee e in Medio Oriente

L'AP è ampiamente diffuso nelle regioni di coltivazione del melo in Europa e sono stati registrati casi in Austria, Belgio, Bosnia ed Erzegovina, Bulgaria, Croazia, Repubblica Ceca, Finlandia, Francia, Germania, Ungheria, Italia, Norvegia, Polonia, Romania, Serbia, Slovenia, Spagna, Svizzera, Paesi Bassi e Turchia (Tedeschi *et al.* 2013). Al fine di fornire informazioni aggiornate sulla distribuzione delle diverse malattie fitoplasmatiche, tra cui l'AP, è stata condotta un'indagine sulla distribuzione della malattia e sulla prevalenza degli insetti vettori di insetti confermati e putativi in tutta Europa (Bertaccini 2014). Sulla base di questi risultati, è stato compilato un database costituito da mappe e tabelle dettagliate di 28 paesi europei e del Medio Oriente (COST FA0807 2013).

Apfeltriebsucht in anderen europäischen Regionen und im Nahen Osten

Die Apfeltriebsucht ist in den Apfelanbaugebieten Europas weit verbreitet und ihr Auftreten wurde in Österreich, Belgien, Bosnien und Herzegowina, Bulgarien, Kroatien, Tschechien, Finnland, Frankreich, Deutschland, Ungarn, Italien, Norwegen, Polen, Rumänien, Serbien, Slowenien, Spanien, Schweiz, Niederlande und Türkei registriert (Tedeschi *et al.* 2013). Um aktuelle Informationen über die Verbreitung verschiedener Phytoplasmenkrankheiten, einschließlich AP, zu erhalten, wurden Studien in ganz Europa durchgeführt (Bertaccini 2014). Auf Grundlage dieser Ergebnisse wurde eine Datenbank mit Karten und detaillierten Tabellen aus 28 Ländern Europas und des Nahen Ostens erstellt (COST FA0807 2013).

Sintomi

Le misure attuali contro l'AP consistono in trattamenti contro gli insetti vettori che trasmettono il fitoplasma e la rimozione di materiale vegetale infetto. La rimozione del materiale vegetale infetto richiede un riconoscimento affidabile degli alberi infetti. Pertanto, la capacità di riconoscere gli alberi con sintomi specifici di AP è un'abilità indispensabile necessaria ad ogni frutticoltore delle regioni colpite. Un'infezione da AP causa una vasta gamma di sintomi nelle specie di *Malus* selvatiche e commerciali (Bovey 1963; Blattny *et al.* 1963; Rui 1950; Refatti e Ciferri 1954; Morvan e Castelain 1975; Kartte e Seemüller 1988), ma l'espressione dei sintomi può variare significativamente (Schmid 1975).

Sintomi specifici

Un sintomo è classificato come specifico dell'AP quando è inequivocabilmente correlato a un'infezione da AP. I sintomi specifici dell'AP sono la formazione della cosiddetta "Scopa delle streghe" (apici vegetativi di forma anomala a cespuglio con gruppi di germogli deboli e più piccoli) e stipole dentate e ingrossate (Seemüller 1990; Jarausch 2007; Seemüller *et al.* 2011a) (Fig. 6 e 7), con quest'ultimo sintomo più difficile da determinare sull'albero. Le dimensioni e la forma delle stipole dipendono dallo stadio di sviluppo del ramo in-

.....

Symptome

Die einzigen, derzeit verfügbaren Maßnahmen zur Eindämmung der Krankheitsausbreitung sind die Bekämpfung der Überträgerinsekten und die Rodung infizierter Pflanzen. Letzteres setzt eine zuverlässige Identifizierung der befallenen Bäume voraus. Daher ist es von entscheidender Bedeutung, dass Obstbauern in betroffenen Gebieten in der Lage sind, Bäume mit spezifischen Apfeltriebsuchtsymptomen zu erkennen. Eine AP-Infektion bei Wild- und Kulturapfel löst ein breites Spektrum an Symptomen aus (Bovey 1963; Blattny *et al.* 1963; Rui 1950; Refatti und Ciferri 1954; Morvan und Castelain 1975; Kartte und Seemüller 1988), wobei das Schadbild sehr unterschiedlich sein kann (Schmid 1975).

Spezifische Symptome

Ein Symptom wird als AP-spezifisch eingestuft, wenn es eindeutig einem Befall mit Apfeltriebsucht zugeordnet werden kann. AP-spezifische Symptome sind die Bildung von Hexenbesen (ein abnormal gewachsener Trieb mit strauchartigen, zwergwüchsigen Verästelungen) und vergrößerte und gezahnte Nebenblätter (Seemüller 1990; Jarausch 2007; Seemüller *et al.* 2011a) (Abb. 6 und 7), wobei das letztgenannte Symptom am Baum schwieriger zu bestimmen ist. Größe und Form der Nebenblätter hängen vom Entwicklungs-

teressato e dal rispettivo tipo di cultivar (Mattedi *et al.* 2008b; 2008f). Pertanto, è necessario un accurato confronto delle stipole di alberi sintomatici e asintomatici della stessa cultivar, al fine di effettuare un'adeguata valutazione della malattia. Sebbene la presenza di sintomi specifici indichi un'infezione da AP, l'assenza di stipole o di "Scopa delle streghe" non è prova che tale albero sia completamente esente da 'Ca. P. mali'.

Sintomi non specifici

Alcuni meli infetti possono mostrare sintomi che - quando compaiono da soli - non possono essere chiaramente collegati a un'infezione da AP, pertanto tali sintomi sono considerati come non specifici dell'AP. Tuttavia, l'espressione contemporanea di due o più sintomi non specifici dell'AP può indicare, in modo abbastanza affidabile, un'infezione da AP (Thomann e Tumler 2000; Mattedi *et al.* 2008b;

Figura 6

Un germoglio sano (A) rispetto ai germogli che mostrano sintomi di scopazzi del melo (B-D)

.....



Abbildung 6

Ein gesunder Trieb (A) im Vergleich zu Trieben, die charakteristische Hexenbesen (B-D) aufweisen

.....

stadium des betroffenen Zweiges und der jeweiligen Sorte ab (Mattedi *et al.* 2008b; 2008f). Daher ist ein sorgfältiger Vergleich der Nebenblätter von symptomatischen und asymptomatischen Bäumen derselben Sorte für eine sichere Diagnose erforderlich. Obwohl das Auftreten spezifischer Symptome auf eine Infektion mit der Apfeltriebsucht hinweist, ist das Fehlen vergrößerter Nebenblätter oder Hexenbesen kein Beweis dafür, dass der jeweilige Baum frei von 'Ca. P. mali' ist.

Unspezifische Symptome

Einige infizierte Apfelbäume können Symptome aufweisen, die - wenn sie allein auftreten - nicht eindeutig einem Befall mit 'Ca. P. mali' zugeordnet werden können. Diese Symptome gelten als nicht spezifisch für AP. Die gleichzeitige Ausprägung zweier oder mehrerer nicht-AP-spezifischer Symptome kann jedoch zuverlässig auf eine AP-Infektion hinweisen (Thomann und Tumler 2000; Mattedi

2008f). Un arrossamento precoce delle foglie è facilmente visibile ed è uno dei più evidenti sintomi non specifici di AP (Bovey 1963) (Fig. 8). Tuttavia, anche danni meccanici agli alberi, infezioni fungine o determinate condizioni fisiologiche possono indurre un arrossamento delle foglie (Schmid 1975; Mattedi *et al.* 2008b; 2008f). Un effetto di bronzatura prematuro, indotto dall'AP, è caratterizzato da una certa tonalità di colore e da una trama fogliare sottile come carta (Mattedi *et al.* 2008f). Inoltre, l'arrossamento precoce delle foglie come indicazione di infezione da AP è considerato variabile tra le differenti cultivar e nel corso degli anni a causa delle diverse condizioni climatiche (Mattedi *et al.* 2008f). In uno studio con la cultivar "Golden Delicious" si è potuto rilevare che l'arrossamento precoce della foglia con interessamento dell'intera chioma era correlato a un'infezione da AP nell'86 % dei casi osservati (Öttl *et al.* 2008). Invece di un arrossamento precoce delle foglie, alcune varietà di melo (ad

Figura 7
Stipole allargate e dentate -
un sintomo specifico di AP



et al. 2008b; 2008f). Eine frühzeitige Rotlaubigkeit ist leicht sichtbar und eines der offensichtlichsten unspezifischen Symptome der Apfeltriebsucht (Bovey 1963) (Abb. 8). Aber auch mechanische Baumschäden, Pilzinfektionen oder bestimmte physiologische Bedingungen können zu Rotlaubigkeit führen (Schmid 1975; Mattedi *et al.* 2008b; 2008f). Die durch Apfeltriebsucht induzierte, frühzeitige Rotlaubigkeit zeichnet sich durch einen bestimmten Farbton und eine papierartige Blattstruktur aus (Mattedi *et al.* 2008f). Darüber hinaus variiert die Ausprägung der AP-induzierten Rotfärbung zwischen verschiedenen Apfelsorten und klimatischen Bedingungen, die sich von Jahr zu Jahr ändern können (Mattedi *et al.* 2008f). In einer Untersuchung mit der Sorte "Golden Delicious" konnte festgestellt werden, dass eine frühzeitige Blattrötung der gesamten Baumkrone in 86 % der beobachteten Fälle mit einem Krankheitsbefall in Zusammenhang steht (Öttl *et al.* 2008). Einige Apfelsorten (z.B. "Gala") können vor der Ernte eine Chlorose ausbilden. Dies

Abbildung 7
Vergrößerte und gezahnte
Nebenblätter - ein spezifisches
Symptom der Apfeltriebsucht

esempio "Gala") possono mostrare una clorosi pre-raccolta, che può essere considerato un indizio di infezione da AP (se non causata da una carenza di nutrienti). Gli alberi infetti spesso mostrano un germogliamento prematuro in primavera (Schmid 1975; Mattedi *et al.* 2008f) che può essere osservato solo in un breve intervallo, rendendo questo sintomo piuttosto difficile da riconoscere. L'AP può indurre la crescita di rami poco sviluppati e, durante l'estate, possono verificarsi formazioni di rosette di foglie apicali così come nuovi germogli dai germogli ausiliari del vecchio legno (Zawadzka 1976). Questi sintomi sono spesso associati a un'aumentata suscettibilità all'oidio (Bovey 1963; Zawadzka 1976; Maszkiewicz *et al.* 1979). In alcuni casi, la diagnosi sui nuovi germogli può essere difficile poiché è influenzata da fattori abiotici, come la potatura o il danneggiamento della corteccia. Il germogliamento tardivo (fioritura tardiva) è spesso definito come un sintomo non specifico dell'AP (Kartte e See-

Figura 8

Arrossamento precoce delle foglie - un sintomo non specifico di AP



Abbildung 8

Vorzeitige Rotlaubigkeit - ein unspezifisches Symptom der Apfeltriebsucht

kann ein Hinweis auf eine AP-Infektion sein, allerdings nur wenn ein Nährstoffmangel ausgeschlossen werden kann. Infizierte Bäume zeigen oft einen verfrühten Knospenaufbruch im Frühjahr (Schmid 1975; Mattedi *et al.* 2008f). Da das Zeitintervall zwischen verfrühtem und normalem Knospenaufbruch sehr kurz ist, ist es schwierig dieses Symptom eindeutig zu identifizieren. Krankheitsbedingt können sich im Sommer gestauchte Triebe mit Rosettenformationen der an der Triebspitze liegenden Blätter bilden. Ebenso kann es zu einem Austrieb des alten Holzes kommen (Zawadzka 1976). Diese Symptome gehen oft mit einer erhöhten Anfälligkeit für Mehltau einher (Bovey 1963; Zawadzka 1976; Maszkiewicz *et al.* 1979). Die Bildung neuer Triebe kann aber auch durch abiotische Faktoren hervorgerufen werden, wie z. B. durch Schnitt oder durch Beschädigung der Rinde. Die späte Blüte wird häufig als unspezifisches Symptom der Apfeltriebsucht definiert (Kartte und Seemüller 1988), auch wenn Mattedi *et al.* (2008b; 2008f) dieses Symptom als nicht charakteris-

müller 1988); tuttavia, Mattedi *et al.* (2008b; 2008f) hanno descritto questo sintomo come non caratteristico per un'infezione. Infatti, gli autori sottolineano che la gravità di questo sintomo dipende dalla varietà di melo e che i nuovi impianti sono particolarmente colpiti a causa dei trattamenti ormonali in vivaio. Il sintomo non specifico di frutti piccoli, insapori e incolori con un picciolo lungo (Blattny *et al.* 1963; Zawadzka 1976; Seidl 1980; Schmidt *et al.* 2009; Seemüller *et al.* 2011a) (Fig. 9) è il sintomo economicamente importante dell'AP poiché questi frutti non sono commerciabili e determina una notevole riduzione dei guadagni (Herzog *et al.* 2012; Seemüller *et al.* 2011a; Österreicher e Thomann 2015b). Ulteriori sintomi non specifici descritti per la malattia dell'AP che non sono direttamente evidenti sono la malformazione delle radici (Kunze 1989) o ramificazione delle radici (Guerriero *et al.* 2012b), formazione di polloni di forme anormale, soppressione della crescita, legno invernale rossa-



Figura 9

Frutti di dimensioni ridotte - un sintomo non specifico di AP (a sinistra: mela prodotta da una pianta sana; a destra: mela prodotta da una pianta affetta da AP)

Abbildung 9

Kleine Früchte – ein unspezifisches Symptom der Apfeltriebsucht (Links: Apfel von einem gesunden Baum. Rechts: Apfel von einem an AP erkrankten Baum)

tisch für eine AP-Infektion beschreiben. Die Autoren weisen darauf hin, dass die Ausprägung jenes Symptoms von der Apfelsorte abhängt und dass Neupflanzungen besonders davon betroffen sind, da sie durch hormonelle Behandlungen in der Baumschule beeinflusst sein können. Die Ausbildung von kleinen, geschmack- und farblosen Früchten mit langem Stiel (Abb. 9) (Blattny *et al.* 1963; Zawadzka 1976; Seidl 1980; Schmidt *et al.* 2009; Seemüller *et al.* 2011a) führt zu erheblichen wirtschaftlichen Einbußen, da Früchte mit derartigen Symptomen nicht marktfähig sind (Herzog *et al.* 2012; Seemüller *et al.* 2011a; Österreicher und Thomann 2015b). Weitere, allerdings nicht sofort ersichtliche, unspezifische Symptome der Apfeltriebsucht sind Missbildungen an den Wurzeln (Kunze 1989), Verzweigungen der Wurzeln (Guerriero *et al.* 2012b), abnormal geformte Wurzelschösslinge, Beeinträchtigung des Wachstums, eine rötliche Färbung des Holzes während des Winters und sich hakenförmig nach unten krümmende Triebspitzen (Mattedi *et al.* 2008f).

stro e gemme apicali uncinatae (Mattedi *et al.* 2008f). Per alcuni taxa di *Malus* sono stati segnalati anche malformazioni fogliari e arricciamento fogliare, sverdimento delle venature e persino deperimento vegetativo (Kartte e Seemüller 1988).

Co-presenza di sintomi

Sintomi specifici o alcune combinazioni di sintomi sono spesso definiti come relativi all'AP (Thomann e Tumler 2000), ma ad oggi l'espressione dei sintomi è piuttosto irregolare e non è possibile rilevare un quadro sistematico (Carraro *et al.* 2004). Non è ancora chiaro se lo sviluppo di sintomi differenti sia correlato a diversi ceppi patogeni, alla sensibilità di alcune cultivar di melo, al comportamento di colonizzazione del fitoplasma nelle parti aeree degli alberi, a fattori ambientali o a determinate condizioni della fisiologia vegetale (Seemüller *et al.* 1984b; Seemüller 2002; Carraro *et al.* 2004; Seemüller e Schneider 2007; Herzog *et al.* 2010; Baric *et al.* 2011b). Pertanto, la disponibilità di studi esaurienti che affrontino lo sviluppo di determinati modelli di sintomi sarebbero utili per ottimizzare le strategie di monitoraggio sul campo. La presenza o all'assenza dei sintomi è anche associata alla presenza o all'assenza del fitoplasma nelle parti aeree degli alberi. La remissione dei sintomi, un fenomeno noto come "recupero" o "recovery" in inglese, è stata descritta sia in forma transitoria che permanente in alberi infetti (Seemüller *et al.* 1984b;

Bei einigen Apfelsorten treten auch Blattfehlbildungen, Einrollen der Blätter, chlorotische Venen und das Absterben von Pflanzenteilen auf (Kartte und Seemüller 1988).

Gleichzeitig auftretende Symptome

Bei der Apfetribsucht treten Symptome häufig in Kombination auf (Thomann und Tumler 2000). Allerdings ist die Symptomausprägung oft sehr unterschiedlich, ohne dass sich bestimmte Muster erkennen lassen (Carraro *et al.* 2004). Es ist noch nicht vollständig geklärt, ob die unterschiedliche Symptomentwicklung mit verschiedenen Erregerstämmen, der Empfindlichkeit bestimmter Apfelsorten, dem Besiedlungsverhalten der Phytoplasmen in den oberirdischen Teilen des Baumes, Umweltfaktoren oder bestimmten pflanzenphysiologischen Bedingungen zusammenhängt (Seemüller *et al.* 1984b; Seemüller 2002; Carraro *et al.* 2004; Seemüller und Schneider 2007; Herzog *et al.* 2010; Baric *et al.* 2011b). Daher wären umfassende Studien zum Auftreten von Symptomkombinationen hilfreich, um Überwachungsstrategien für die Praxis optimieren zu können. Das Auftreten bzw. das Fehlen der Symptome ist auch mit dem Auftreten bzw. dem Fehlen des Phytoplasmas in den oberirdischen Teilen des Baumes verbunden. Mit dem Rückgang der Symptome bei kranken Bäumen, dem sogenannten „Recovery-Phänomen“ (Aussetzen der Symptome trotz Infektion) geht eine vorübergehende oder dauerhafte „Regeneration“ einher

Osler *et al.* 2000; Carraro *et al.* 2004). Il recupero è caratterizzato da una cessazione dei sintomi ma dalla persistenza della presenza dei batteri nelle radici (si veda anche il capitolo “Il fenomeno del recupero”). I batteri che risiedono nelle radici degli alberi recuperati possono ricolonizzare spontaneamente la chioma e indurre nuovamente i sintomi (Carraro *et al.* 2004). Il trattamento con induttori di resistenza e regolatori di crescita delle piante ha mostrato solo effetti limitati e transitori sull'espressione dei sintomi, sui tassi di infezione e sui tassi di crescita di meli infetti da 'Ca. P. mali' (Schmidt *et al.* 2015). La guarigione dei meli infetti, cioè l'eradicazione del patogeno, non è mai stata documentata.

Valutazione dei sintomi per determinare il grado di infestazione

Il periodo migliore per la valutazione dei sintomi visivi è durante la raccolta poiché la maggior parte dei sintomi si sviluppa in autunno e, in confronto alla primavera, il numero di alberi con sintomi specifici è quasi il doppio (Jarausch 2007). Tuttavia, è consigliabile una valutazione dei sintomi da AP durante tutto il ciclo vegetativo, poiché diversi sintomi, come il germogliamento prematuro e l'arrossamento precoce delle foglie, sono possibili da rilevare solo in determinati periodi. Tuttavia, la valutazione dei sintomi visivi non garantisce che sia possibile identificare tutte le piante infette di un

(Seemüller *et al.* 1984b; Osler *et al.* 2000; Carraro *et al.* 2004). Beim „Recovery“ treten zwar keine Krankheitssymptome in den betroffenen Bäumen mehr auf, die Bakterien lassen sich aber weiterhin in den Wurzeln nachweisen (siehe Kapitel „Das Recovery-Phänomen“). Die Bakterien, die in den Wurzeln der „Recovery“ Bäume überleben, können die Baumkrone spontan wieder besiedeln und erneut Symptome hervorrufen (Carraro *et al.* 2004). In einer Studie konnte gezeigt werden, dass die Behandlung mit Resistenzinduktoren und Pflanzenwachstumsregulatoren lediglich einen begrenzten und vorübergehenden Effekt auf die Symptomausprägung, sowie auf Infektions- und Wachstumsraten von mit 'Ca. P. mali' infizierten Apfelbäumen hat (Schmidt *et al.* 2015). Eine Heilung befallener Apfelbäume, d. h. eine vollständige Ausmerzung des Erregers konnte bisher nicht nachgewiesen werden.

Beurteilung der Symptome zur Ermittlung des Befallsgrades

Die beste Zeit zur Symptomerhebung ist die Ernteperiode, da sich die meisten Symptome im Herbst entwickeln und die Anzahl der Bäume mit spezifischen Symptomen im Herbst fast doppelt so hoch ist wie im Frühjahr (Jarausch 2007). Es wird jedoch eine wiederholte Erhebung der Symptome über die gesamte Vegetationsperiode empfohlen, da einige Symptome, wie z.B. früher Knospenaufbruch und vorzeitige Blattrötung, nur in bestimmten Jahreszeiten sichtbar sind. Die visuelle

frutteto, dal momento che anche alberi senza sintomi possono essere infetti (si vedano i capitoli "Materiale vegetale infetto latente - una contagiosa bomba a orologeria?" e "Il fenomeno del recupero"). Ciò è dovuto principalmente al fatto che lo stato fisiologico dell'albero, la fase dell'infezione, le condizioni climatiche e altri fattori possono influenzare l'espressione dei sintomi.

Legislazione

Dal 2006 il Ministero dell'Agricoltura italiano prescrive che i materiali vegetali infetti da AP devono essere eliminati per ridurre il rischio di un'ulteriore diffusione di AP (Ministero delle Politiche e Agricole Forestali 2006). I decreti attualmente in vigore in entrambe le province di Bolzano e Trento definiscono la Scopa delle streghe come sintomo specifico per l'AP (Provincia Autonoma di Trento 2003; Autonome Provinz Bozen / Provincia Autonoma di Bolzano 2016). Stipole dentate e ingrossate, piccoli frutti, germogliamento prematuro e arrossamento fogliare precoce sono considerati sintomi da AP quando almeno due di questi sintomi si verificano contemporaneamente. I meli che presentano sintomi specifici o una determinata combinazione di sintomi devono essere sradicati per legge.

Symptomerhebung garantiert jedoch nicht, dass alle infizierten Pflanzen in einer Obstanlage mit Sicherheit identifiziert werden können, da auch symptomlose Bäume infiziert sein können (siehe Kapitel „Latent infiziertes Pflanzenmaterial - eine infektiöse Zeitbombe?“ und „Das Recovery“-Phänomen“). Dies liegt vor allem daran, dass der physiologische Zustand des Baumes, die Phase der Infektion, die klimatischen Bedingungen und andere Faktoren die Symptomausprägung beeinflussen können.

Gesetzliche Regelungen

Seit 2006 schreibt das italienische Landwirtschaftsministerium vor, dass AP befallene Pflanzen gerodet werden müssen, um das Risiko einer weiteren Ausbreitung der Apfeltriebsucht zu reduzieren (Ministero delle Politiche Agricole e Forestali 2006). In den derzeit geltenden Dekreten der Provinz Bozen und der Provinz Trient wird der Besen bzw. Hexenbesen als sicheres Merkmal für den Befall mit der Apfeltriebsucht gewertet (Provincia Autonoma di Trento, 2003; Autonome Provinz Bozen / Provincia Autonoma di Bolzano 2016). Vergrößerte und gezahnte Nebenblätter, kleine Früchte, früher Knospenbruch und vorzeitige Blattrötung gelten als Symptome für die Apfeltriebsucht, wenn mindestens zwei dieser Symptome in Kombination auftreten. Für Apfelbäume, die bestimmte Symptome oder eine der o.g. Symptomkombination aufweisen, gilt die gesetzliche Rodungspflicht.

Interazioni ospite-patogeno

Come tutti i fitoplasmi, 'Ca. P. mali' è un patogeno vegetale che risiede nel floema. Il 'Ca. P. mali' è presente nel melo durante tutto l'anno (Baric *et al.* 2011b), ma la concentrazione di fitoplasmi nelle parti aeree dell'albero varia drasticamente nel corso dell'anno (Schaper e Seemüller 1984; Seemüller *et al.* 1984a; 1984b; Loi *et al.* 2002; Pedrazzoli *et al.* 2008; Baric *et al.* 2011b). Il 'Ca. P. mali' ricolonizza le parti aeree dell'albero a partire dalla tarda primavera/inizio estate e questa colonizzazione raggiunge un picco verso la fine dell'estate e dura fino a dicembre. Vista la degradazione del floema, la concentrazione di fitoplasma nella chioma è ulteriormente ridotta durante la dormienza (Schaper e Seemüller 1984; Pedrazzoli *et al.* 2008). Pertanto, anche l'infettività (vale a dire in questo caso la capacità di infettare gli insetti vettori) di un melo potrebbe variare nel corso dell'anno. Nell'apparato radicale invece, il fitoplasma 'Ca. P. mali' è presente per tutto l'anno (Schaper e Seemüller 1982; Seemüller *et al.* 1984a; Baric *et al.* 2011b). Il costante rinnovo del floema nel sistema radicale consente la sopravvivenza dei fitoplasmi durante l'inverno (Schaper e Seemüller 1982).

I fitoplasmi interagiscono con il proprio ospite vegetale a diversi livelli. Si muovono attraverso i pori delle placche cribrose, interferiscono con i processi fisiologici e biochimici delle piante e bloccano

Wirt-Pathogen-Interaktionen

Wie alle Phytoplasmen, ist 'Ca. P. mali' ein pflanzenpathogenes Bakterium, das die Siebröhren, das sogenannte Phloem seiner Wirtspflanzen besiedelt. 'Ca. P. mali' überdauert im Apfelbaum (Baric *et al.* 2011b) aber die Konzentration an Phytoplasmen in den oberirdischen Teilen des Baumes schwankt im Jahresverlauf sehr stark (Schaper und Seemüller 1984; Seemüller *et al.* 1984a; 1984b; Loi *et al.* 2002; Pedrazzoli *et al.* 2008; Baric *et al.* 2011b). 'Ca. P. mali' besiedelt die oberirdischen Teile des Baumes im späten Frühjahr bzw. im Frühsommer, wobei die Besiedelung im Spätsommer ihren Höhepunkt erreicht und bis zum Dezember andauert. Mit einer Degeneration des Phloems während der Vegetationsruhe verringert sich auch die Konzentration an Phytoplasmen in der Baumkrone (Pedrazzoli *et al.* 2008; Schaper und Seemüller 1984). Daher kann auch die Infektiosität (d. h. in diesem Fall die Fähigkeit, den Insektenvektor zu infizieren) eines Apfelbaumes im Laufe des Jahres variieren. Im Wurzelsystem ist 'Ca. P. mali' ganzjährig nachzuweisen (Schaper und Seemüller 1984; Pedrazzoli *et al.* 2008). Aufgrund der permanenten Erneuerung des Phloems im Wurzelsystem überleben die Phytoplasmen dort auch im Winter (Schaper und Seemüller 1982).

Phytoplasmen interagieren mit ihren Wirtspflanzen auf verschiedenen Ebenen. Sie bewegen sich durch die Poren der Siebplatten,

il trasporto del floema ostruendo i tubi cribrosi (Kartte e Seemüller 1991; Lepka *et al.* 1999). Il '*Ca. P. mali*' non dispone di molti geni considerati essenziali per il metabolismo cellulare e per tale motivo fa affidamento sull'assorbimento di nutrienti dalla pianta. Si può ipotizzare che il fitoplasma assimili una vasta gamma di nutrienti e composti organici dalle cellule ospiti, probabilmente con effetti dannosi sul metabolismo dell'ospite.

I fitoplasmi possono influenzare il metabolismo della pianta direttamente attraverso un insieme di proteine di membrana e indirettamente attraverso proteine effettrici (si veda il capitolo "Aspetti molecolari dello sviluppo dei sintomi nel melo"). Gli studi *in vitro* hanno dimostrato che la proteina immunodominante Imp, o proteina di membrana integrale, del '*Ca. P. mali*' interagisce con le proteine vegetali come l'actina (Boonrod *et al.* 2012). Ciò assomiglia a quanto accade con un altro fitoplasma, il '*Ca. P. asteris*', la cui proteina di membrana antigenica immunodominante Amp si lega all'actina e si ipotizza che giochi un ruolo importante per quanto riguarda la mobilità del fitoplasma nel proprio ospite (Galetto *et al.* 2011). Inoltre, l'Amp del '*Ca. P. asteris*' interagisce con le sub-unità di sintesi dell'ATP dell'insetto, suggerendo che la sintesi dell'ATP svolga un ruolo di recettore per l'ingresso del fitoplasma nelle cellule dell'intestino medio e delle ghiandole salivari dell'insetto (Galetto *et al.* 2011). Questi risultati indicano un ruolo importante dell'Amp nel determinare la

stören physiologische und biochemische Prozesse der Pflanzen und blockieren den Transport im Phloem durch Verstopfen der Siebröhren (Kartte und Seemüller 1991; Lepka *et al.* 1999). Dem Phytoplasma '*Ca. P. mali*' fehlen viele Gene, die für den Zellstoffwechsel als essentiell gelten. Daher ist das Phytoplasma auf die Aufnahme von Nährstoffen aus der Pflanze angewiesen. Es wird vermutet, dass Phytoplasmen ein breites Spektrum an Nährstoffen und organischen Verbindungen aus den Zellen der Wirtspflanze aufnehmen, wahrscheinlich mit schädlichen Auswirkungen auf den Pflanzenstoffwechsel.

Phytoplasmen können den Pflanzenstoffwechsel durch eine Reihe von Membranproteinen direkt und indirekt durch Effektorproteine beeinflussen (siehe Kapitel „Molekulare Aspekte der Symptomentwicklung beim Apfelbaum“). *In vitro*-Studien zeigten, dass das immunodominante Membranprotein Imp von '*Ca. P. mali*' mit pflanzlichen Proteinen wie zum Beispiel Aktin interagiert (Boonrod *et al.* 2012). Auch das immunodominante, antigene Membranprotein Amp des verwandten Phytoplasmas '*Ca. P. asteris*' interagiert mit Aktin. Es wird angenommen, dass es eine Rolle bei der Mobilität des Phytoplasmas in seinem Wirt spielt (Galetto *et al.* 2011). Darüber hinaus interagiert Amp mit Untereinheiten der ATP-Synthase des Insekts, was darauf hindeutet, dass die ATP-Synthase eine Rolle als Rezeptor für den Zelleintritt in die Insektenzellen des mittleren Darms und der Speichel-

specificità dell'insetto vettore (Suzuki *et al.* 2006; Galetto *et al.* 2008; 2011; Rashidi *et al.* 2015).

L'infezione da '*Ca. P. mali*' può anche portare alla produzione di diverse proteine di difesa, a un aumento dei composti fenolici e sembra alterare la produzione di perossido di idrogeno (H_2O_2) nelle piante ospiti (si veda il capitolo "Aspetti molecolari dello sviluppo dei sintomi nel melo"). È interessante notare che il fitoplasma '*Ca. P. asteris*' può modulare la propria espressione genica in base allo stadio dell'infezione e alla specie ospite (Oshima *et al.* 2011). La disponibilità della sequenza del genoma di '*Ca. P. mali*' (Kube *et al.* 2008) fornisce la base per indagare le relazioni fitoplasma-ospite e i fattori di virulenza batterica. Le analisi delle sequenze hanno rivelato che il genoma del '*Ca. P. mali*' porta un elevato numero di AAA+ ATPasi e proteasi associate alla membrana (ad esempio FTSH codificate da *hflb*, anche note come geni *ftsh*) che possono degradare le proteine per l'assorbimento dei nutrienti o smorzare le reazioni di difesa dell'ospite (Kube *et al.* 2008) o agire come fattori di virulenza (si veda il capitolo "Aspetti molecolari dello sviluppo dei sintomi nel melo"). Come conseguenza di queste complesse interazioni, il contenuto di clorofilla, biomassa fogliare e quantità di proteine solubili diminuisce considerevolmente, mentre il contenuto di zuccheri, amido, amminoacidi e saccaridi totali aumenta significativamente (Bertamini *et al.* 2002). Sono stati osservati cambiamenti nei contenuti di

drüse spielt (Galetto *et al.* 2011). Die Interaktion zwischen Amp und bestimmten Insektenproteinen könnte daher eine Rolle dabei spielen, ob ein Insekt als Überträger des Phytoplasma fungieren kann (Suzuki *et al.* 2006; Galetto *et al.* 2008; 2011; Rashidi *et al.* 2015). Interessanterweise kann '*Ca. P. asteris*' seine Genexpression entsprechend dem Stadium der Infektion und der Wirtsart modulieren (Oshima *et al.* 2011).

Eine Infektion mit '*Ca. P. mali*' kann in der Wirtspflanze zur Produktion verschiedener Abwehrproteine, zur Erhöhung bestimmter Phenolverbindungen und zur Veränderung der Wasserstoffperoxid (H_2O_2)-Produktion führen (siehe Kapitel „Molekulare Aspekte der Symptomentwicklung im Apfelbaum“). Die Verfügbarkeit der Genomsequenz von '*Ca. P. mali*' (Kube *et al.* 2008) bildet die Grundlage für die Untersuchung von Phytoplasma-Wirtsbeziehungen und bakterieller Virulenzfaktoren. Sequenzanalysen ergaben, dass das Genom von '*Ca. P. mali*' eine hohe Anzahl von membranassoziierten AAA+ ATPasen und Proteasen (z. B. FtsH kodiert von *hflb*, auch bekannt als *ftsh*-Gene) kodiert. Proteasen können bestimmte Proteine abbauen und diese dadurch für die Nährstoffaufnahme verfügbar machen oder sie können die Abwehrreaktionen des Wirtes dämpfen (Kube *et al.* 2008) oder als Virulenzfaktoren wirken (siehe Kapitel „Molekulare Aspekte der Symptomentwicklung beim Apfelbaum“). Als Folge dieser komplexen molekularen Wechselwirkungen nimmt

pigmenti, nel complesso clorofilla-proteina e nelle attività fotosintetiche (Bertamini *et al.* 2003), nonché cambiamenti nei composti organici volatili (Rid *et al.* 2016). Un elevato livello di saccaridi è stato spesso messo in relazione con lo sviluppo dei sintomi indotti da AP nel melo, tuttavia ci sono ancora molti quesiti irrisolti, come ad esempio: il fitoplasma è in grado di indurre tutte le modifiche metaboliche, come lo squilibrio ormonale, la riallocazione degli zuccheri, l'accumulo di amido, ecc., in modo attivo nell'ospite o sono un risultato che è conseguenza di cambiamenti strutturali che possono essere osservati nel floema colonizzato? Inoltre, si possono osservare disturbi del fotosistema quando si verifica lo stress a livello di floema (Lemoine *et al.* 2013). Sebbene i fitoplasminteragiscano direttamente con gli effettori e le proteine di membrana con il proprio ospite, il numero di cambiamenti fenotipici e la loro intensità potrebbero essere una conseguenza indiretta di cambiamenti nella fisiologia del floema, occlusione del tessuto, deposizioni callose, ecc., come descritto in molti studi (Musetti *et al.* 2010; 2011a; 2013a; 2013b; Guerriero *et al.* 2012a; Patui *et al.* 2013; Zimmermann *et al.* 2015). Pertanto, le prime interazioni durante l'infezione potrebbero essere molto specifiche e localizzate, ma non si può escludere che conseguenze successive siano piuttosto "reazioni a catena" che portano a cambiamenti fisici nei tessuti del floema e "semplicemente" causano squilibri fisiologici nell'ospite non direttamente collegati.

der Gehalt an Chlorophyll, Blattbiomasse und die Menge an löslichen Proteinen deutlich ab, während der Gehalt an Zucker, Stärke, Aminosäuren und Sacchariden erheblich zunimmt (Bertamini *et al.* 2002). In infizierten Pflanzen wurden Veränderungen des Pigmentgehalts, des Chlorophyll-Protein-Komplexes und der photosynthetischen Aktivität beobachtet (Bertamini *et al.* 2003). Außerdem verändert eine AP-Infektion die Freisetzung bestimmter flüchtiger organischer Verbindungen der Pflanze (Rid *et al.* 2016). Ein erhöhter Saccharidgehalt ist oft mit der AP-induzierten Symptomentwicklung im Apfelbaum verbunden. Dennoch sind noch viele Fragen offen, z. B. ob das Phytoplasma in der Lage ist die metabolischen Veränderungen wie hormonelles Ungleichgewicht, Zuckerumverteilung, Stärkeansammlung usw. im Wirt aktiv zu induzieren, oder ob es sich um Reaktionen der Pflanze auf die strukturellen Veränderung durch die Infektion handelt. Generell können Beeinträchtigungen des Photosystems beobachtet werden, wenn Stress auf Phloemlevel auftritt (Lemoine *et al.* 2013). Obwohl Phytoplasmen mit ihrem Wirt direkt über Effektoren und Membranproteine interagieren können, könnten die phänotypischen Veränderungen und deren Intensität eine indirekte Folge von Veränderungen in der Phloemphysiologie, Gewebeverschlüssen, Kalloseablagerungen usw. sein (Musetti *et al.* 2010; 2011a; 2013a; 2013b; Guerriero *et al.* 2012a; Patui *et al.* 2013; Zimmermann *et al.* 2015). So können erste Interaktionen während

Non è ancora chiaro quali vie metaboliche, geni e proteine vengano direttamente influenzate dal fitoplasma, inoltre, cambiamenti metabolici a valle non specifici in piante malate potrebbero ulteriormente ostacolare le analisi volte a fare chiarezza su quali siano le cause e quali le conseguenze.

Aspetti molecolari dello sviluppo dei sintomi nel melo

Per la maggior parte delle cultivar di melo, un'infezione da AP non porta alla morte dell'albero infetto. Inoltre, un'alta incidenza di 'Ca. P. mali' nella chioma è stata descritta come un prerequisito per lo sviluppo di gravi sintomi da AP (Schaper e Seemüller 1984; Seemüller *et al.* 1984a; 1984b; Bisognin *et al.* 2008b). La concentrazione di fitoplasmii nelle radici, d'altra parte, non sembra influenzare l'intensità della colonizzazione della chioma e il grado di espressione dei sintomi da AP (Baric *et al.* 2011b) (si veda il capitolo "Interazioni ospite-patogeno"). Tuttavia, gli esatti meccanismi molecolari alla base dello sviluppo dei sintomi non sono ancora noti in dettaglio. In uno studio che utilizzava tabacco e pervinca come piante modello, un'infezione da AP induceva una compromissione della traslocazione dei carboidrati nel tessuto parenchimatico (Lepka *et al.* 1999). Questa alterazione del trasporto dei carboidrati è stata correlata allo sviluppo dell'inibizione della crescita (arresto della crescita) e,

der Infektion zwar sehr spezifisch und lokal sein, bei späteren Folgen könnte es sich aber um nachgeschaltete „Kettenreaktionen“ handeln, die zu physiologischen Ungleichgewichten im Wirt führen. Welche Gewebe, Gene und Proteine direkt vom Phytoplasma betroffen sind, ist in der Gesamtheit noch nicht bekannt. Weitere Analysen sind nötig, um zukünftig zwischen Ursache und Wirkung differenzieren zu können.

Molekulare Aspekte der Symptomentwicklung beim Apfelbaum

Bei den meisten Apfelsorten führt der Befall mit AP nicht zum Absterben des infizierten Baumes. Das massive Auftreten von 'Ca. P. mali' in der Baumkrone gilt als Voraussetzung für eine ausgeprägte Symptomentwicklung der Apfeltriebsucht (Schaper und Seemüller 1984; Seemüller *et al.* 1984a; 1984b; Bisognin *et al.* 2008b). Die Konzentration der Phytoplasmien in den Wurzeln hingegen scheint die Kolonisierungsintensität in der Baumkrone und die AP-Symptomentwicklung nicht zu beeinflussen (Baric *et al.* 2011b) (siehe Kapitel „Wirt-Pathogen-Interaktionen“). Die genauen molekularen Mechanismen der Symptomentwicklung sind jedoch noch nicht im Detail bekannt. In einer Studie mit Tabak und Immergrün, die als Modellpflanzen dienten, führte eine AP-Infektion zur Beeinträchtigung des Kohlenhydrattransports in stoffwechselaktives Gewebe (sink tissue)

dall'altro lato, all'accumulo di carboidrati nel tessuto di origine come causa del degrado delle foglie (clorosi) (Lepka *et al.* 1999). In linea con l'ipotesi che un'alterazione del metabolismo dei carboidrati sia un motivo per l'arresto della crescita e la clorosi, è possibile dimostrare che i geni chiave del ciclo di Calvin e dei processi di fotosintesi dei cloroplasti sono alterati nel melo durante l'infezione da AP e che tali alterazioni potrebbero essere coinvolte nello sviluppo dei sintomi da AP (Aldaghi *et al.* 2012; Luge *et al.* 2014). Uno studio recente relativo all'insorgenza precoce della degradazione della clorofilla nelle foglie di melo infetto da AP ha rivelato che il processo alla base della degradazione della clorofilla indotta da AP è lo stesso processo responsabile della senescenza stagionale delle foglie. Gli autori di questo studio hanno anche dimostrato che le piante infettate da AP contengono meno clorofilla, la degradano prima, ma più lentamente e contengono meno cataboliti quando la disgregazione della clorofilla è completata (Mittelberger *et al.* 2017). Giorno *et al.* (2013) descrivono una diminuzione del contenuto di glucosio, fruttosio e sorbitolo nei tessuti delle piante giovani di melo infette da AP, mentre saccarosio e amido aumentano. Gli autori di questo studio hanno anche riscontrato una sovraregolazione dei geni *PR-6*, *PR-8* e *Mal d 1*. I prodotti genici codificati sono quindi probabilmente coinvolti nell'induzione della risposta immunitaria nelle piante giovani infette da AP. Giorno e i co-autori (2013) hanno

(Lepka *et al.* 1999). Die Beeinträchtigung des Kohlenhydrattransports wird als Grund für die Wachstumshemmung (stunting) diskutiert und die reduzierte Kohlenhydratkonzentration im Speichergewebe (source tissue) könnte der Grund für das Symptom der Gelbfärbung (Chlorose) sein (Lepka *et al.* 1999). Es konnte gezeigt werden, dass sich die Expression wichtiger Gene des Calvin-Zyklus' und der Photosynthese in den Chloroplasten des Apfels während einer AP-Infektion verändern, und dass diese Veränderungen wiederum an der Ausbildung von Symptomen beteiligt sein könnten (Aldaghi *et al.* 2012; Luge *et al.* 2014). In einer Untersuchung wurde gezeigt, dass der Abbau des Chlorophylls in AP-infizierten Apfelbäumen zu den gleichen Kataboliten führt wie der saisonbedingte Chlorophyllabbau in Blättern gesunder Bäume. Die Autoren dieser Studie wiesen auch nach, dass Blätter AP-infizierter Bäume weniger Chlorophyll enthalten, und dieses früher, aber langsamer abbauen. Nach Abschluss des Chlorophyllabbaus konnten darüber hinaus weniger Kataboliten in Blättern AP-infizierter Bäume nachgewiesen werden (Mittelberger *et al.* 2017b). Giorno *et al.* (2013) beschreiben eine Verringerung des Glukose-, Fructose- und Sorbitolgehalts im Gewebe junger Apfelbaumsetzlinge, wohingegen sich der Saccharose- und Stärkegehalt erhöhte. Außerdem fanden die Autoren heraus, dass die Gene *PR-6*, *PR-8* und *Mal d 1* in infizierten Proben stärker exprimiert sind als in den entsprechenden Kontrollen. Diese Gene könnten an der

anche ipotizzato che l'aumento della quantità di zuccheri solubili potrebbe agire come una strategia di segnalazione nella pianta che influisce sull'espressione genica.

Il fatto che lo sviluppo dei sintomi potrebbe derivare da un effetto del 'Ca. P. mali' sulla regolazione ormonale delle piante è stato suggerito da molti autori e mostrato in diversi studi (Luge *et al.* 2014; Zimmermann *et al.* 2015; Tan *et al.* 2016; Janik *et al.* 2017). Aldaghi *et al.* (2012) affermano che profondi disturbi nell'equilibrio dei regolatori della crescita sono la causa di una vasta gamma di sintomi negli alberi colpiti. Nel loro studio, raggruppano i geni dei meli affetti da AP in tre gruppi ontologici: i) i geni coinvolti nei percorsi di fotosintesi sono de-regolati e potrebbero quindi essere rilevanti per lo sviluppo dei sintomi da AP, ad es. sintomi di clorosi fogliari e sintomi mediati dal metabolismo dei carboidrati; ii) i geni che influenzano la senescenza e l'accumulo di auxina e potrebbero quindi essere responsabili dell'inibizione della dominanza apicale (arresto della crescita) avendo anche un effetto sulla biosintesi dei flavonoidi (arrossamento delle foglie); iii) i geni che regolano la difesa delle piante, in particolare portando alla riduzione di H₂O₂, aumentando così la suscettibilità e la moltiplicazione del batterio nell'ospite (Aldaghi *et al.* 2012). In linea con questo, Musetti *et al.* (2004) hanno identificato che l'H₂O₂ si accumula in alberi infetti da AP recuperati e privi di sintomi. Gli autori hanno quindi concluso che un accumulo

Immunreaktion in den infizierten Pflanzen beteiligt sein. Giorno und Co-Autoren (2013) gingen zudem davon aus, dass die erhöhte Menge an löslichen Zuckern eine Art Signalstrategie darstellen könnte, die die Genexpression beeinflusst.

Dass eine Infektion mit 'Ca. P. mali' die pflanzliche Hormonregulation verändert, und dass dies im Zusammenhang mit der Symptomentwicklung steht, konnte bereits in einigen Studien gezeigt werden (Luge *et al.* 2014; Zimmermann *et al.* 2015; Tan *et al.* 2016; Janik *et al.* 2017). Aldaghi *et al.* (2012) sind der Auffassung, dass schwerwiegende Störungen im Gleichgewicht der Wachstumsregulatoren die Ursache für eine breite Palette von Symptomen bei befallenen Bäumen sind. In ihrer Studie fassen sie die Apfelgene, deren Expression von einer AP-Infektion verändert wird in drei Ontologiegruppen zusammen: i) Gene, die an Photosynthese beteiligt sind werden dereguliert und könnten daher für die Symptomentwicklung relevant sein, z. B. Blattchlorosen und durch den Kohlenhydrat-Stoffwechsel ausgelöste Symptome; ii) Gene, die Seneszenz und den Auxinhaushalt beeinflussen und somit für die Hemmung der Apikaldominanz (stunting) verantwortlich sein könnten und sich auf die Biosynthese der Flavonoide (Blattrötung) auswirken könnten; iii) Gene, welche die pflanzliche Abwehr regulieren, und vor allem zur Reduktion von H₂O₂ führen und somit die Anfälligkeit der Pflanze und die Vermehrung des Bakteriums in dieser erhöhen (Aldaghi *et*

di H₂O₂ contrasta lo sviluppo dei sintomi da AP.

Anche se molti autori interpretano i risultati a livello metabolomico come la ragione di alcuni sintomi, le prove dirette e i collegamenti molecolari di questa interconnessione rimangono scarsi. Il meccanismo spazio-temporale dello sviluppo della malattia nell'albero non è facile da analizzare. Tanto più che l'infezione naturale è difficile da definire in base a un modello, la maggior parte degli studi si basa su analisi condotte con piante modello (ad es. *Arabidopsis* spp. oppure *Nicotiana* spp.) o con semenzali di melo, ma raramente coinvolgono alberi di melo pienamente sviluppati. Tuttavia, sebbene il melo venga utilizzato per studiare il progresso della malattia, lo stato stagionale e fisiologico (ad esempio le capacità di difesa immunologica) gioca un ruolo cruciale nelle rispettive analisi. I fattori batterici che consentono al patogeno di stabilire e mantenere un'infezione, i cosiddetti fattori di virulenza o proteine effettrici, sono i principali attori nello sviluppo di malattie di diverse fitoplasmosi (Hoshi *et al.* 2009; MacLean *et al.* 2011; Sugio *et al.* 2011a; 2011b; Maejima *et al.* 2014). Spesso la conoscenza del fitoplasma del giallume dell'astro (AYWB) o di altre specie di fitoplasmi viene utilizzata come base rappresentativa per spiegare i risultati dello sviluppo dei sintomi da AP. È stato identificato l'effettore ATP_00189 di AP, che condivide la sequenza e l'omologia funzionale con l'effettore SAP11 dell'AYWB (Siewert *et al.* 2014;

al. 2012). In diesem Zusammenhang konnten Musetti *et al.* (2004) in AP-infizierten, aber symptomfreien „Recovery“-Apfelbäumen eine erhöhte H₂O₂-Konzentration feststellen. Die Autoren schlossen daraus, dass ein erhöhter H₂O₂-Gehalt die Entwicklung von Symptomen verringert.

Auch wenn viele Autoren einen Zusammenhang zwischen Stoffwechseleränderungen und Symptomentwicklung annehmen, liegen bislang nur wenige direkte Beweise dafür vor. Der räumlich-zeitliche Ablauf der Krankheitsentwicklung im Baum ist nicht einfach zu analysieren. Die meisten Untersuchungen wurden mit Modellpflanzen (z.B. *Arabidopsis* spp. oder *Nicotiana* spp.) oder mit jungen Apfelpflänzchen (Setzlinge) durchgeführt, beziehen sich aber selten auf ausgewachsene Apfelbäume. Auch der jahreszeitliche und physiologische Zustand des Baumes (z. B. die immunologische Abwehrsituation) können einen entscheidenden Einfluss auf die jeweiligen Analysen haben. Bakterielle Faktoren, die es dem Erreger ermöglichen, eine Infektion zu verursachen und aufrechtzuerhalten, so genannte Virulenzfaktoren oder Effektorproteine, sind entscheidend an der Entstehung verschiedener Phytoplasmosen beteiligt (Hoshi *et al.* 2009; MacLean *et al.* 2011; Sugio *et al.* 2011a; 2011b; Maejima *et al.* 2014). Häufig werden die Erkenntnisse aus anderen Phytoplasma-Wirt Interaktionen (z.B. des Aster Yellow Witches' Broom Phytoplasma; AYWB) als Basis verwendet, um die

Janik *et al.* 2017). Come l'effettore SAP11 del fitoplasma AYWB, l'ATP_00189 del '*Ca. P. mali*' è legato ai fattori di trascrizione di classe II teosinte/cycloidea/pcf (TCP) della propria pianta ospite (nel caso di '*Ca. P. mali*', i TCP dalla *Malus × domestica*) (Sugio *et al.* 2011a; Janik *et al.* 2017). Questi fattori di trascrizione regolano l'espressione degli ormoni durante i diversi processi di crescita, difesa e sviluppo della pianta (Cubas *et al.* 1999; Lopez *et al.* 2015; Ikeda e Ohme-Takagi 2014). Inoltre, uno studio con *Nicotiana benthamiana* che esprimeva l'ATP_00189 di tipo SAP del '*Ca. P. mali*', ha rivelato che questo effettore cambia l'espressione dei composti volatili, porta a difetti nello sviluppo del tricoma ghiandolare e alla soppressione delle risposte dell'acido jasmonico (Tan *et al.* 2016). Si ipotizza che gli ATPasi AAA+ fitoplasmatici abbiano un ruolo nella virulenza da '*Ca. P. mali*' (Seemüller *et al.* 2011c; 2013). In particolare, l'ATPasi AP460 AAA+ potrebbe far parte di un sistema di secrezione fitoplasmatica che agisce come un fattore di virulenza AP (Seemüller *et al.* 2018b). Tuttavia, l'esatta funzione e il ruolo di queste proteine durante l'infezione rimangono ancora non ben definite.

Funktion von '*Ca. P. mali*' Effektoren und die Entstehung von AP-Symptomen zu erklären. Es konnte gezeigt werden, dass der AP Effektor ATP_00189 Sequenzähnlichkeiten und eine funktionelle Homologie zu dem AYWB-Effektor SAP11 aufweist (Siewert *et al.* 2014; Janik *et al.* 2017). Ähnlich wie SAP11 des AYWB-Phytoplasma bindet ATP_00189 von '*Ca. P. mali*' teosinte/cycloidea/pcf (TCP) Klasse II Transkriptionsfaktoren seiner jeweiligen Wirtspflanze (bei '*Ca. P. mali*' TCPs von *Malus × domestica*) (Sugio *et al.* 2011a; Janik *et al.* 2017). Diese Transkriptionsfaktoren regulieren die Hormonexpression während der verschiedenen Wachstums-, Abwehr- und Entwicklungsprozesse der Pflanze (Cubas *et al.* 1999; Lopez *et al.* 2015; Ikeda und Ohme-Takagi 2014). Darüber hinaus ergab eine Studie mit ATP_00189 (auch SAP11_{CaPM} genannt) dass dieser Effektor in *Nicotiana benthamiana* die Produktion von Volatilen verändert, zu Defekten in der Trichomentwicklung und zur Unterdrückung der Jasmonat-vermittelten Abwehrreaktion führt (Tan *et al.* 2016). Es wird außerdem vermutet, dass AAA+ ATPasen bei der Virulenz von '*Ca. P. mali*' eine Rolle spielen (Seemüller *et al.* 2011b; 2013). Insbesondere die AAA+ ATPase AP460 könnte Teil eines Phytoplasma-Sekretionsystems sein, das als AP-Virulenzfaktor wirkt (Seemüller *et al.* 2018b). Die genaue Funktion und die Rolle dieser Proteine während der Infektion sind jedoch noch unklar.

Trasmissione di 'Ca. P. mali' indipendente da insetti vettori

Poiché il fitoplasma è limitato al floema all'interno della pianta, può essere trasmesso solo da una pianta all'altra da insetti che pungono e succhiano il floema o da connessioni floema-floema intatte. La trasmissione da parte degli insetti vettori è considerata la via più importante e più rilevante di diffusione dell'AP. Tuttavia, la trasmissione del 'Ca. P. mali' può essere ottenuta anche da innesti, ponti di radici naturali o tramite la cuscuta (*Cuscuta* spp.) (si veda anche il capitolo "Piante ospiti del 'Ca. P. mali'"). La trasmissione dal melo infetto alla pervinca ospite sperimentale (*Catharanthus roseus*) o dalla pervinca al tabacco è stata ottenuta tramite diverse specie di cuscuta (Carraro *et al.* 1988; Seemüller *et al.* 2011a; Luge *et al.* 2014). La *Cuscuta* è una pianta parassita che forma connessioni floematiche tra diverse piante e quindi può trasmettere il fitoplasma tra diverse piante ospiti.

Diverse specie di alberi hanno dimostrato di essere interconnesse attraverso i propri sistemi di radici (Tarroux *et al.* 2014). Questo fenomeno, chiamato anastomosi, è stato riportato in più di 150 specie (Bormann 1966). Le anastomosi radicali assumono funzioni vitali per la comunità degli alberi migliorando l'assorbimento dei nutrienti, la longevità del sistema radicale, la stabilità dell'albero e attenuando la

Insektenvektor-unabhängige Übertragung von 'Ca. P. mali'

Da Phytoplasmen innerhalb der Pflanze auf das Phloem beschränkt sind, können sie nur von Phloem-saugenden Insekten von Pflanze zu Pflanze bzw. durch intakte Phloem-Phloem-Verbindungen übertragen werden. Die Übertragung durch Insektenvektoren gilt als wichtigste und relevanteste Übertragungsart der Apfeltriebsucht. Die Übertragung von 'Ca. P. mali' erfolgt jedoch auch durch Veredelung, durch natürlich gebildete Wurzelverwachsungen oder durch die parasitäre Pflanze Teufelszwirn (*Cuscuta* spp.) (siehe Kapitel „Wirtspflanzen von 'Ca. P. mali'“). Die Übertragung der Phytoplasmen vom infizierten Apfel auf den in vielen Versuchen verwendeten Modellwirt Immergrün (*Catharanthus roseus*) oder vom Immergrün auf Tabak wurde durch unterschiedliche Arten des Teufelszwirns erreicht (Carraro *et al.*, 1988; Seemüller *et al.* 2011a; Luge *et al.* 2014). Teufelszwirn ist eine Schmarotzerpflanze, die Phloem-Verbindungen zwischen unterschiedlichen Pflanzen ausbildet und somit Phytoplasmen zwischen mehreren Wirtspflanzen -auch verschiedener Arten- übertragen kann.

Einige Baumarten bilden Wurzelverwachsungen zwischen benachbarten Bäumen (Tarroux *et al.* 2014). Dieses Phänomen wird Anastomose genannt und wurde bei mehr als 150 Arten festgestellt (Bor-

competizione tra alberi vecchi e giovani (Drénou 2003). La formazione di ponti radicali naturali sembra essere molto comune anche fra meli (Vindimian *et al.* 2002; Ciccotti *et al.* 2008). Studi epidemiologici hanno suggerito un possibile ruolo dei ponti radicali nella diffusione dell'AP (Bliefernicht e Krczal 1995), specialmente nei meleti di media età o più avanzati (Vindimian *et al.* 2002; Baric *et al.* 2008). Le applicazioni del glifosato, erbicida trasportato dal floema sistemico alle matrici del melo e la successiva traslocazione di questo erbicida ad alberi adiacenti tramite connessioni radicali, sono state utilizzate per dimostrare la presenza e la frequenza dei contatti radicali tra gli alberi all'interno di un frutteto (Ciccotti *et al.* 2007; Baric *et al.* 2008). I ponti radicali si verificano non solo tra meli vitali, ma anche tra giovani piante appena piantate e residui vitali di vecchie radici lasciate nel terreno dopo lo sradicamento del frutteto precedente. Queste radici rimanenti si possono rivelare vitali fino a 5-6 anni dallo sradicamento dell'albero e potrebbero ancora essere saggiate per la positività al 'Ca. P. mali' (Mattedi *et al.* 2008a). L'evidenza della trasmissione del 'Ca. P. mali' attraverso i ponti radicali è stata dimostrata in una sperimentazione in cui le piantine infette erano state messe insieme con piantine non infette (Ciccotti *et al.* 2008). La formazione del ponte radicale si è verificata dal primo anno in poi e aumentata in frequenza negli anni successivi. La naturale trasmissione del 'Ca. P. mali' dei ponti radicali è stata dimostrata da specifici

mann 1966). Bei der Wurzelanastomose werden die Vitalfunktionen der Einzelbäume gestärkt. Dies ist für die Baumgemeinschaften vorteilhaft, da es zu einer Verbesserung der Nährstoffaufnahme, der Langlebigkeit des Wurzelsystems, der Stabilität des Baumes und zur Abschwächung der Konkurrenz zwischen alten und jungen Bäumen führt (Drénou 2003). Die Ausbildung solcher natürlicher Wurzelbrücken scheint auch bei Apfelbäumen weit verbreitet zu sein (Vindimian *et al.* 2002; Ciccotti *et al.* 2008). Epidemiologische Studien sprechen dafür, dass Wurzelbrücken bei der Verbreitung der Apfeltriebsucht (Bliefernicht und Krczal 1995), vor allem in Obstanlagen mit mittelalten und alten Bäumen eine Rolle spielen (Vindimian *et al.* 2002; Baric *et al.* 2008). In Versuchen mit Glyphosat, einem systemisch über das Phloem transportierten Herbizid konnte die Häufigkeit von Wurzelverwachsungen zwischen Apfelbäumen untersucht werden. Dazu wurde Glyphosat auf Baumstümpfe aufgestrichen und die anschließende Häufigkeit der Übertragung dieses Herbizides auf benachbarte Bäume untersucht (Ciccotti *et al.* 2007; Baric *et al.* 2008). Wurzelbrücken treten nicht nur zwischen gesunden Apfelbäumen auf, sondern auch zwischen frisch gesetzten Jungpflanzen und vitalen Restbeständen alter Wurzeln gerodeter Bäume. Diese Wurzelreste sind noch fünf bis sechs Jahre nach Rodung des Baumes lebensfähig und in jenen konnte auch 'Ca. P. mali' nachgewiesen werden (Mattedi *et al.* 2008a). Ein Nachweis der Übertragung von 'Ca. P. mali'

studi di PCR e di immunofluorescenza (Ciccotti *et al.* 2008). I dati sperimentali suggeriscono che le connessioni delle radici sembrano avere un ruolo nella diffusione del 'Ca. P. mali' in vecchi frutteti e tra alberi su portainnesti vigorosi (Baric *et al.* 2008). Tuttavia, la trasmissione tramite le radici del 'Ca. P. mali' potrebbe essere osservata anche in alberi che crescono sul portainnesto meno vigoroso M9, comunemente usato nei frutteti commerciali (Lesnik *et al.* 2008). Il 'Ca. P. mali' può essere trasmesso sperimentalmente da un albero all'altro per innesto. L'innesto della marza è di solito un metodo molto efficace di trasmissione del 'Ca. P. mali' rispetto all'innesto di piccoli pezzi di tessuto (Seemüller *et al.* 2011a). Tuttavia, il successo della trasmissione tramite l'innesto della marza dipende dalla stagione in quanto la colonizzazione delle parti aeree dell'albero è soggetta alle fluttuazioni stagionali della presenza del 'Ca. P. mali' (Seemüller *et al.* 1984b; Pedrazzoli *et al.* 2008; Baric *et al.* 2011b; Schmidt *et al.* 2015) (si veda anche capitolo "Interazioni ospite-patogeno"). Pedrazzoli *et al.* (2008) hanno dimostrato che i tassi di trasmissione tramite il taglio del germoglio erano molto bassi tra marzo e maggio, ma più elevati tra giugno e agosto. Di conseguenza, inoculazioni sperimentali, ad es. per lo screening della resistenza all'AP, vengono effettuate nell'ultimo periodo dell'anno. Viceversa, l'innesto della marza durante il periodo di dormienza riduce il rischio di trasmissione accidentale tramite materiale infetto latente durante la produzione

durch Wurzelbrücken konnte bei einer Studie gezeigt werden, bei der infizierte Setzlinge gemeinsam mit gesunden Setzlingen getopft wurden. Die Wurzelbrückenbildung erfolgte ab dem ersten Jahr und nahm in den Folgejahren zu (Cicotti *et al.* 2008). Experimentelle Daten deuten darauf hin, dass Wurzelverbindungen eine Rolle für die Verbreitung von 'Ca. P. mali' zwischen Bäumen auf starkwüchsigem Unterlagen spielen (Baric *et al.* 2008), sowie auch zwischen Bäumen auf der kommerziell häufig verwendeten, schwachwüchsigem Unterlage M9 (Lesnik *et al.* 2008).

'Ca. P. mali' kann durch Veredelung experimentell von Baum zu Baum übertragen werden. Die Pfropfung mit Edelreisern ist in der Regel eine effizientere Methode zur Übertragung von 'Ca. P. mali' als kleine Gewebeteile (Chip) zu pflanzen (Seemüller *et al.* 2011a). Der Übertragungserfolg bei der Pfropfung hängt jedoch von der Jahreszeit ab, da die Konzentration an 'Ca. P. mali' in den oberirdischen Teilen des Baumes jahreszeitlichen Schwankungen unterliegt (Seemüller *et al.* 1984b; Pedrazzoli *et al.* 2008; Baric *et al.* 2011b; Schmidt *et al.* 2015) (siehe Kapitel „Wirt-Pathogen-Interaktionen“). Pedrazzoli *et al.* (2008) haben nachgewiesen, dass die Übertragungsraten durch Chip-Veredelung zwischen März und Mai sehr niedrig sind und zwischen Juni und August am höchsten. Folglich empfiehlt es sich experimentelle Pfropfungen zur Übertragung von 'Ca. P. mali' in der zweiten Jahreshälfte durchzuführen. Umgekehrt ist das Ri-

di materiale vegetale. Le radici sono costantemente colonizzate dal fitoplasma (Seemüller *et al.* 1984b) e sono quindi un buon tessuto donatore per la trasmissione del 'Ca. P. mali' per innesto di radice a germoglio in altri periodi dell'anno. L'innesto di materiale da alberi il cui stato infettivo è sconosciuto a piante indicatrici sensibili (indicizzazione) è diventato un metodo comune per determinare se la pianta donatrice è infettata da fitoplasmi o virus (European e Mediterranean Plant Protection Organization 1999, 2017).

La coltura *in vitro* è stata impiegata con successo per mantenere il 'Ca. P. mali' in cultivar di *Malus* micropropagate (Jarausch *et al.* 1996). Utilizzando l'innesto *in vitro*, il fitoplasma potrebbe essere trasmesso a piante che *in vitro* sono in buona salute con un alto grado di efficienza (Jarausch *et al.* 1999). Questo approccio *in vitro* è stato quindi applicato allo screening degli ibridi domestici di *Malus sieboldii* e *M. sieboldii* × *M. domestica* per la resistenza all'AP (Bisognin *et al.* 2008a). D'altra parte, i portainnesti innestati derivati da vivai che utilizzano involontariamente marze infette costituiscono un rischio di introdurre materiale infetto in un frutteto (si veda il capitolo "Materiale vegetale infetto latente - una contagiosa bomba a orologeria?"). Tuttavia, il 'Ca. P. mali' non è trasmesso dai semi (Seidl e Komarkova 1974).

siko einer unbeabsichtigten Übertragung bei der Veredelung mit Edelreisern (siehe Kapitel „Latent infiziertes Pflanzenmaterial - eine infektiöse Zeitbombe?“) zwischen März und Mai geringer als zwischen Juni und August. Die Wurzeln werden von den Phytoplasmen ständig besiedelt (Seemüller *et al.* 1984b) und sind daher ein geeignetes Spendergewebe für die experimentelle Übertragung von 'Ca. P. mali'. Die Pfropfung mit Material von Bäumen, deren Infektionsstatus unbekannt ist, auf empfindliche Indikatorpflanzen (Indexierung) ist eine etablierte Methode, um festzustellen, ob die Spenderpflanze mit Phytoplasmen oder Viren infiziert ist (European und Mediterranean Plant Protection Organization 1999, 2017).

Die *in vitro*-Kultur wurde erfolgreich eingesetzt, um 'Ca. P. mali' in mikrovermehrten *Malus* Arten zu kultivieren und zu erhalten (Jarausch *et al.* 1996). Durch die *in vitro*-Vermehrung konnte das Phytoplasma höchst effizient auf gesunde *in vitro*-Pflanzen übertragen werden (Jarausch *et al.* 1999), um *Malus sieboldii* und *M. sieboldii* × *M. domestica* Hybride auf Resistenz gegen Apfelfriebsucht zu untersuchen (Bisognin *et al.* 2008a). Eine Übertragung von 'Ca. P. mali' über Samen konnte nicht gezeigt werden (Seidl und Komarkova 1974).

Materiale vegetale infetto latente – una contagiosa bomba a orologeria?

Il periodo di latenza riferito ad AP è definito come il lasso di tempo che trascorre dall'infezione allo sviluppo di sintomi visibili nella pianta. Fino ad ora non è esattamente definibile se il periodo di latenza termina con lo sviluppo di sintomi specifici o non specifici. Bovey (1963) ha riportato un periodo medio di latenza di 1,8 anni dopo l'infezione artificiale tramite taglio del germoglio o innesto. L'infezione da innesto della marza può causare uno sviluppo sintomatico più rapido, a causa di tassi di trasmissione del fitoplasma più elevati. L'innesto della marza, da alberi sintomatici coltivati in campo su portainnesti M9 sani, eseguito a febbraio, ha provocato lo sviluppo di sintomi nel 67,4 % delle piante in luglio e nell'84,8 % in ottobre dello stesso anno (Schmidt *et al.* 2015). In uno studio di sei anni su un nuovo frutteto appena piantato, Unterthurner e Baric (2011b) hanno dimostrato che i sintomi da AP possono essere riscontrati, nella maggior parte dei casi, entro un anno e mezzo o due dopo l'infezione. Tuttavia, gli autori di questo studio hanno anche riportato un prolungato periodo di latenza di quattro anni in uno degli alberi infetti.

In uno studio, condotto nell'Italia nord-orientale, è stato possibile determinare che il 10 % degli alberi non sintomatici scelti a caso

Latent infiziertes Pflanzenmaterial – eine infektiöse Zeitbombe?

Die auf die Apfeltriebsucht bezogene Latenzzeit wird als die Zeitspanne von der Übertragung des Erregers bis zur Entwicklung sichtbarer Symptome an der Pflanze definiert. Bislang ist noch nicht geklärt, ob die Latenzzeit mit der Entwicklung spezifischer oder unspezifischer Symptome endet. Bovey (1963) berichtete von einer durchschnittlichen Latenzperiode von 1,8 Jahren nach einer künstlichen Infektion durch Chip-Veredelung oder Geißfußveredelung. Die Veredelung gesunder M9-Unterlagen mit Reiseren symptomatischer Apfelbäume im Februar führte bereits im Juli (67,4 %) bzw. im Oktober (84,8 %) desselben Jahres zur Symptomentwicklung in den veredelten Pflanzen (Schmidt *et al.* 2015). Verglichen zur natürlichen Übertragung über Insekten führt eine Übertragung durch Veredelung zu einer verkürzten Zeitspanne zwischen Infektion und Symptomausprägung. Dies lässt sich auf das höhere Phytoplasmeninkokulum durch den Edelreis und die geringere Größe der Empfängerpflanze zurückführen. In einer 6-jährigen-Studie, die in einer neu gepflanzten Apfelanlage durchgeführt wurde, wiesen Unterthurner und Baric (2011) nach, dass Symptome der Apfeltriebsucht in der Regel innerhalb von 1,5 bis 2 Jahren nach der Infektion auftraten. Die Autoren dieser Studie berichteten jedoch auch über eine verlängerte

erano infetti da AP (Mattedi *et al.* 2008b). Negli anni dal 2003 al 2006 è stato condotto uno studio simile in Alto Adige in cui, rispettivamente, il 2,3 % e il 10,5 % degli alberi non sintomatici di due meleti erano infetti (Baric *et al.* 2007). Negli anni dal 2015 al 2017, uno su 1.000 alberi non sintomatici provenienti da due meleti altoatesini è risultato positivo all'AP (dati non pubblicati).

È necessario notare che è stato utilizzato solo materiale vegetale sano, certificato e non infetto dal 'Ca. P. mali' per la produzione e la propagazione. Il materiale vegetale infetto potrebbe facilitare la diffusione della malattia in aree finora libere dall'AP. Pertanto, il 'Ca. P. mali' viene classificato come organismo di quarantena in molti paesi e non deve essere presente nel materiale vegetale. L'importazione di materiale *Malus* da paesi con presenza di AP è regolata in tutto il mondo (<https://gd.eppo.int/taxon/PHYPPMA/categorization>). Tuttavia, è noto che - nonostante tutti gli sforzi - a volte viene rilevata la presenza di AP nel materiale madre e nel materiale in vivaio (W. Jarausch, comunicazione personale). A causa del periodo di latenza, le ispezioni visive non sono sufficienti per riconoscere la totalità del materiale vegetale infetto ma asintomatico. Questo vale per il materiale madre che viene potato drasticamente ogni anno per la produzione di germogli e per le piante giovani del vivaio. Pertanto, il monitoraggio tramite PCR casuale delle piante madri viene applicato come nuova strategia per garantire un materiale vegetale

.....

Latenzperiode von vier Jahren bei einem der infizierten Bäume. In einer in Nordostitalien durchgeführten Studie konnte festgestellt werden, dass 10 % zufällig ausgewählter, nicht symptomatischer Bäume mit Apfeltriebsucht befallen waren (Mattedi *et al.* 2008c). In den Jahren 2003 bis 2006 wurde eine ähnliche Studie in zwei Anlagen in Südtirol durchgeführt und es konnte in 2,3 % bzw. 10,5 % der nicht-symptomatischen Bäume eine Infektion mit 'Ca. P. mali' nachgewiesen werden (Baric *et al.* 2007). In den Jahren 2015 bis 2017 war einer von 1000 nicht symptomatischen Bäumen aus zwei Südtiroler Apfelanlagen von der Apfeltriebsucht befallen (unveröffentlichte Daten). Für die Produktion und die Vermehrung sollte nur 'Ca. P. mali' freies und zertifiziertes Pflanzenmaterial verwendet werden. Infiziertes Pflanzenmaterial könnte die Ausbreitung der Krankheit in bisher von AP freie Gebiete begünstigen. Daher gilt 'Ca. P. mali' in vielen Ländern als Quarantäneorganismus und darf unter keinen Umständen in importiertem Pflanzenmaterial enthalten sein. Der weltweite Import von *Malus* Pflanzmaterial, welches aus Befallsgebieten stammt, wird daher über die Pflanzenschutzorganisation für Europa und den Mittelmeerraum reguliert (<https://gd.eppo.int/taxon/PHYPPMA/categorization>). Trotz aller Vorsichtsmaßnahmen werden gelegentlich Apfeltriebsuchtinfektionen in Wurzeln oder Trieben von Bäumen aus Baumschulen entdeckt (W. Jarausch, persönliche Mitteilung). Aufgrund der Latenzperiode reichen Sichtbonituren nicht aus, um infiziertes aber

sano (almeno in Germania) (W. Jarausch, comunicazione personale). Il rischio di trasmissione per innesto usando una cultivar con infezione latente è considerato inferiore, specialmente se la parte da innestare è stata prelevata nella stagione di dormienza (si veda il capitolo "Trasmissione di 'Ca. P. mali' indipendente da insetti vettori". Esistono osservazioni di alberi sintomatici già dal primo anno di trapianto, ad esempio in Mattedi *et al.* (2008a), che hanno rilevato l'1,1 % di alberi infetti in un frutteto sperimentale appena piantato. Dal 2001 al 2004, i test PCR di materiale pronto per essere piantato hanno rivelato infezioni latenti da circa l'1 ‰ delle piante in Germania (dati non pubblicati) al 3 ‰ di piante in Italia (dati non pubblicati). Mattedi *et al.* (2008b) hanno trovato due su 300 alberi infetti prima del loro trapianto in un'area del Trentino (Italia). Nelle radici degli alberi in latenza, il 'Ca. P. mali' è presente durante tutto l'anno in concentrazioni paragonabili a quelle in alberi sintomatici (Baric *et al.* 2011b). Al contrario, il 'Ca. P. mali' colonizza solo sporadicamente e in concentrazioni molto basse le parti aeree degli alberi latenti (Seemüller *et al.* 1984a; 1984b; Loi *et al.* 2002; Pedrazzoli *et al.* 2008; Baric *et al.* 2011b). Poiché gli insetti vettori si nutrono di foglie e parti verdi della pianta, piante latentemente infette o recuperate, ad esempio alberi senza sintomi (si veda anche il capitolo "Il fenomeno del recupero") potrebbero quindi rappresentare una fonte di inoculazione per il vettore responsabile della trasmis-

.....

symptomloses Pflanzenmaterial zu identifizieren. Dies gilt sowohl für die Stammbestände, die jedes Jahr für die Edelreisproduktion stark beschnitten werden, als auch für die Jungpflanzen in den Baumschulen. Daher werden in Deutschland als neue Strategie zur Qualitätssicherung stichprobenartig Mutterpflanzen mittels PCR-Screening analysiert (W. Jarausch, persönliche Kommunikation). Das Übertragungsrisiko durch Veredelung mit einem latent infizierten Edelreis, Chip oder Knospe gilt als geringer, insbesondere wenn das Veredlungsmaterial in der Ruhezeit entnommen wurde (siehe Kapitel „Insektenvektor-unabhängige Übertragung von 'Ca. P. mali' - Wurzelverwachsungen und Übertragung durch Veredelung“). Es gibt Berichte über Apfelbäume, die bereits im ersten Standjahr, Symptome zeigten. Mattedi *et al.* (2008a) wiesen z.B. in einer neu gepflanzten Versuchsanlage 1,1 % infizierte Bäume nach. Von 2001 bis 2004 zeigten PCR-Tests in Deutschland, dass etwa 1 ‰ des Pflanzmaterials eine latente Infektion aufwies (unveröffentlichte Daten) und etwa 3 ‰ des Pflanzmaterials in Italien (unveröffentlichte Daten). Mattedi *et al.* (2008c) konnten nachweisen, dass zwei von 300 analysierten Bäumen in der Provinz Trient (Italien) bereits vor der Auspflanzung in die Anlagen infiziert waren.

In den Wurzeln latent infizierter Bäume ist 'Ca. P. mali' das ganze Jahr über nachweisbar, und zwar in Konzentrationen, die mit denen von symptomatischen Bäumen vergleichbar sind (Baric *et al.* 2011b). Im Gegensatz dazu besiedelt 'Ca. P. mali' nur sporadisch und in sehr

sione del 'Ca. P. mali'. Ancora non è chiaro quanto fitoplasma deve essere assorbito da un insetto vettore per portare a un'infezione in quest'ultimo. Quindi, la domanda, se le piante ospiti di 'Ca. P. mali' con una titolazione molto bassa nelle parti aeree hanno un potenziale infettivo, ancora resta senza risposta.

Il fenomeno del recupero

Meli coltivati sul campo e infettati da 'Ca. P. mali' possono mostrare una remissione spontanea dei sintomi, un fenomeno descritto come recupero (Osler *et al.* 2000). È stato rilevato che in 10 anni il 71 % degli alberi con sintomi da AP della cultivar "Florina" hanno recuperato, ciò corrisponde a un tasso medio annuo di remissione dei sintomi del 29 % (Osler *et al.* 2000). Gli alberi recuperati non sono privi di batteri e quindi non si sono completamente ripresi dall'infezione, ma solo dai sintomi tipici. Nonostante la scomparsa dei sintomi, i batteri possono ancora essere rilevati nelle radici, ma non nella chioma (Carraro *et al.* 2004). Tuttavia, l'albero di melo rimane infetto ed è in grado di trasmettere il fitoplasma attraverso l'innesto a radice ma non tramite l'innesto a germoglio (Carraro *et al.* 2004). Dopo un periodo non sintomatico, l'albero può cambiare il proprio stato da asintomatico a sintomatico e il fitoplasma può essere rilevato nuovamente nelle parti aeree dell'albero (Carraro *et*

geringen Konzentrationen die oberirdischen Teile latent befallener Bäume (Seemüller *et al.* 1984b; 1984a; Loi *et al.* 2002; Pedrazzoli *et al.* 2008; Baric *et al.* 2011b). Da Insektenvektoren an Blättern und grünen Pflanzenteilen saugen, stellen latent infizierte oder „Recovery“- Bäume (siehe Kapitel „Das Recovery-Phänomen“) eine potentielle Infektionsquelle für die Vektor-abhängige Übertragung dar. Es ist noch immer unklar, wie viele Phytoplasmen ein Überträgerinsekt aufnehmen muss, um diese anschließend übertragen zu können. Daher bleibt die Frage unbeantwortet, ob 'Ca. P. mali' infizierte Wirtspflanzen mit einer niedrigen 'Ca. P. mali'-Konzentration in der Baumkrone überhaupt ein Infektionspotenzial darstellen.

Das „Recovery“-Phänomen

In seltenen Fällen zeigen 'Ca. P. mali'-infizierte, symptomatische Apfelbäume in der neuen Vegetationsperiode keine AP-spezifischen Symptome mehr. Dieses Phänomen wird als „Recovery“ bezeichnet (Osler *et al.* 2000). Innerhalb von 10 Jahren wiesen 71 % der von Apfelfriebsucht befallenen Bäume der Sorte 'Florina' keine Symptome mehr auf, was einer durchschnittlichen jährlichen Rückgangsrate der Symptome von 29 % entspricht (Osler *et al.* 2000). Die „Recovery“ Bäume sind nicht bakterienfrei und demnach nicht von der Infektion geheilt, sie weisen lediglich keine Symptome mehr auf. Obwohl keine Symp-

al. 2004; Osler *et al.* 2000; Seemüller *et al.* 1984b; 2010b). È interessante notare che finora questo fenomeno poteva essere osservato solo sul campo, ma non poteva ancora essere indotto in condizioni sperimentali (Carraro *et al.* 2004; Schmidt *et al.* 2015).

Comprendere a pieno i meccanismi alla base del recupero può fornire informazioni importanti per capire meglio il processo della malattia AP. Il meccanismo molecolare di recupero prevede l'attivazione di diverse parti della risposta immunitaria della pianta. Un aumento di H₂O₂ nei tessuti colpiti è caratteristico delle piante recuperate, possibilmente in grado di contrastare direttamente o indirettamente il batterio (Musetti *et al.* 2004). Inoltre, gli alberi recuperati mostrano un aumento dei livelli di concentrazioni di Ca²⁺ che potrebbero essere collegati all'aumento osservato di deposizioni callose e all'accumulo di proteine nel floema fogliare (Musetti *et al.* 2010). L'aumento dell'espressione callosa è stato ipotizzato essere connesso al collegamento del floema (reversibile) e quindi al blocco di una distribuzione efficace dei batteri od ostacolo alla traslocazione delle proteine effettrici batteriche portando a una perdita di sintomi (Musetti *et al.* 2011b; Guerriero *et al.* 2012a). Tuttavia, in uno studio non è stata trovata alcuna correlazione tra la limitazione del flusso di massa del floema e la titolazione del fitoplasma nelle specie di *Arabidopsis* infettate da '*Ca. P. asteris*'. Questo suggerisce che le proteine degli elementi cribrosi siano coinvolte in

tome mehr sichtbar sind, können die Bakterien immer noch in den Wurzeln, aber nicht in der Baumkrone nachgewiesen werden (Carraro *et al.* 2004). Aus diesem Grund können die Phytoplasmen über Wurzelmaterial nicht aber über Edelreiser oder Chips übertragen werden (Carraro *et al.* 2004). Der Baum kann im Laufe der Jahre wieder symptomatisch werden und die Phytoplasmen besiedeln in diesem Fall erneut die Baumkrone (Osler *et al.* 2000; Carraro *et al.* 2004; Seemüller *et al.* 1984b; 2010b). Interessanterweise konnte dieses Phänomen zwar in Apfelanlagen beobachtet, jedoch nicht unter experimentellen Bedingungen herbeigeführt werden (Carraro *et al.* 2004; Schmidt *et al.* 2015). Die dem „Recovery“ zugrunde liegenden Mechanismen können aufschlussreiche Erkenntnisse zum Krankheitsverlauf der Apfeltriebsucht liefern. Bei der Infektion aktivieren bestimmte molekulare Mechanismen die pflanzliche Immunantwort. Eine erhöhte H₂O₂-Konzentration in befallenem Gewebe ist für „Recovery“-Pflanzen charakteristisch, allerdings ist noch unklar ob es sich bei der Ausschüttung von H₂O₂ um eine direkte oder indirekte Reaktion der Pflanze auf die Infektion handelt (Musetti *et al.* 2004). Darüber hinaus weisen „Recovery“-Bäume erhöhte Konzentrationen an Ca²⁺ auf. Dies könnte im Zusammenhang mit der, während der Infektion beobachteten, verstärkten Callose-Ab Lagerung und der Proteinakkumulation im Phloem stehen (Musetti *et al.* 2010). Es wird vermutet, dass der erhöhte Callose-Gehalt zu einer reversiblen Verstopfung des Phloems führt und somit eine effekti-

meccanismi di difesa diversi dalla limitazione meccanica del patogeno (Pagliari *et al.* 2017). Musetti e colleghi (2013b) ipotizzano che, durante l'infezione, una cascata di attivazioni ormonali può portare sia a uno sviluppo del sintomo che a un recupero: l'acido salicilico (AS) viene immediatamente aumentato dopo l'infezione e antagonizza le difese dipendenti dell'acido jasmonico (AJ), portando a un'infezione sintomatica e all'accumulo di H_2O_2 che a sua volta porta ad un aumento dei livelli di AS. Tali autori suggeriscono che questa induzione dell'AS potrebbe contrastare lo sviluppo dei sintomi e quindi condurre a un recupero (Musetti *et al.* 2004; 2013b). L'idea di tale induzione dell'AS è supportata dal fatto che gli alberi recuperati sono meno inclini all'induzione dei sintomi da re-infezione rispetto agli alberi che non abbiano precedentemente recuperato, suggerendo un tipo di resistenza indotta (Osler *et al.* 2000). Tuttavia, Patui *et al.* (2013) hanno dimostrato che gli alberi recuperati hanno accumulato l'AJ attraverso l'induzione della via oxilipinica, inoltre, hanno anche dimostrato che i livelli di AS sono diminuiti negli alberi recuperati, sottolineando l'antagonismo reciproco tra i processi dell'AJ e dell'AS. Questi autori suggeriscono inoltre che l'attività osservata di perossidasi e ossidasi in combinazione con un'attività ridotta di scavenging delle specie reattive dell'ossigeno (ROS) potrebbe portare ad un accumulo di H_2O_2 durante il recupero. Tuttavia, nonostante la mancanza di chiarezza se l'accumulo di H_2O_2

ve Verteilung der Bakterien oder phytoplasmaler Effektorproteine verhindert (Musetti *et al.* 2011b; Guerriero *et al.* 2012a). Es konnte allerdings in einer Studie mit '*Ca. P. asteris*' in *Arabidopsis* keine Korrelation zwischen Einschränkung des Massenflusses im Phloem und der Phytoplasma-Konzentration festgestellt werden. Dies lässt vermuten, dass außer einer mechanischen Blockierung des Pathogens auch Proteine in den Siebelementen an den Abwehrmechanismen beteiligt sind (Pagliari *et al.* 2017). Musetti *et al.* (2013b) gehen davon aus, dass eine hormonelle Reaktionskette im Verlauf der Infektion entweder zu einer Symptomentwicklung oder zu „Recovery“ führt: Bei einer Infektion erhöht sich die Salicylsäure (SA) - Produktion und hemmt dadurch die Jasmonat (JA) - assoziierte Abwehr, was zu einer symptomatischen Infektion und Anreicherung von H_2O_2 und wiederum zu einem erhöhten SA-Spiegel führt. Die Forscher vermuten, dass diese Produktion von SA als Abwehr gegen die Symptomentwicklung dient und somit eine Erholung der Bäume bewirkt (Musetti *et al.* 2013b; 2004). Die These einer solchen SA-Induktion wird durch die Tatsache unterstützt, dass „Recovery“ Bäume weniger anfällig für die Symptominduktion durch eine erneute Infektion sind als nicht-„Recovery“ Bäume, was auf eine Art induzierte Resistenz schließen lässt (Osler *et al.* 2000). Patui *et al.* (2013) wiesen jedoch nach, dass sich in „Recovery“-Bäumen JA über eine Induktion von Oxylin anreichert, und konnten zeigen, dass die SA-Produktion in „Recovery“-Bäumen zurückgeht. Dies unterstreicht

è una causa o una conseguenza, l'attivazione simultanea dell'AJ e dell'AS durante il recupero è uno scenario possibile che potrebbe effettivamente migliorare le risposte di difesa (van Wees *et al.* 2000).

Materiale vegetale resistente: la soluzione ideale?

Le malattie da fitoplasma sono difficili da controllare a causa del ciclo di vita bifasico del fitoplasma nella pianta, degli insetti vettori e delle diverse modalità di trasmissione. Poiché mancano trattamenti specifici contro il fitoplasma, disporre di materiale vegetale resistente sarebbe un grande vantaggio.

La ricerca di resistenza genetica naturale all'AP nei taxa *Malus* è stata ampiamente utilizzata (Kartte e Seemüller 1991; Seemüller *et al.* 1992). Tra i *Malus* × *domestica*, le seguenti cultivar sono citate come (relativamente) tolleranti all'infezione da AP: 'Lord Lambourne' (Friedrich 1993), 'Clivia', 'Herma' (Friedrich e Rode 1996), 'Roja de Benjama' (Invasive Species Compendium 2017), 'Antonovka', 'Cortland', 'Spartan', 'Yellow Transparent', 'Wealthy' (Németh 1986; Thakur e Handa 1999), 'Melrose' (Richter 2003), 'Goldstar', 'Rubinola', 'Lotos' e 'Rosana' (Pflanzenschutzdienst Baden-Württemberg 2003). Tuttavia, la valutazione della tolleranza di queste cultivar era piuttosto basata su osservazioni empiriche sul campo che valutavano l'insorgenza

den reziproken Antagonismus zwischen JA- und SA abhängigen Signalwegen. Die Autoren vermuten ferner, dass die beobachteten Peroxidase-Oxidaseaktivitäten in Kombination mit einem verminderten Abbau reaktiver Sauerstoffspezies (reactive oxygen species; ROS) zu einer H₂O₂-Anreicherung während des „Recovery“ führen. Es ist noch unklar, ob es sich bei der H₂O₂-Anreicherung um Ursache oder Wirkung handelt. Nichtsdestotrotz ist die gleichzeitige Aktivierung von JA und SA während des „Recovery“ ein interessanter Ansatzpunkt zur Erklärung warum die Abwehrreaktion in den oberirdischen Teilen des Baumes effizienter abläuft (van Wees *et al.* 2000).

Resistentes Pflanzenmaterial – die ideale Lösung?

Phytoplasmen sind aufgrund ihres biphasischen Lebenszyklus in Pflanze und Insekt sowie aufgrund der unterschiedlichen Übertragungswege schwer zu bekämpfen. Da direkte Bekämpfungsmaßnahmen fehlen, wäre die Verwendung von resistentem Pflanzenmaterial eine effiziente Lösung, um die Krankheitsverbreitung zu verhindern. In den letzten Jahren wurde intensiv nach einer natürlichen Resistenz gegen die Apfeltriebsucht innerhalb der Gattung *Malus* gesucht (Kartte und Seemüller 1991; Seemüller *et al.* 1992). Unter den Kulturapfelsorten gelten die nachfolgenden Sorten als (relativ) tolerant

dei sintomi rispetto a uno screening attraverso studi mirati sulle infezioni. Tramite studi approfonditi condotti da Seemüller e colleghi (1992), è stata condotta un'indagine sistematica e controllata utilizzando diversi genotipi comprendenti centinaia di portainnesti, sia ben definiti che sperimentali, di *Malus × domestica* e di genotipi di *Malus selvatici* e ornamentali. Questi sono stati saggiati tramite un'infezione mediata da innesto in prove sul campo a lungo termine che hanno portato ad osservare che la resistenza (cioè espressione di sintomi inferiori e/o titolazioni batteriche inferiori nelle piante infette) era caratteristica solo di alcuni portainnesti apomittici sperimentali derivati da una specifica accessione di *M. sieboldii* (Kartte e Seemüller 1991; Seemüller *et al.* 1992; 2008; 2018a; Bisognin *et al.* 2008b; Seemüller e Harries 2010). Tuttavia, questi promettenti portainnesti *M. sieboldii* non sono propriamente adatti alla coltivazione di mele commerciali, dato che le piante innestate su queste varietà sviluppano per lo più alberi vigorosi e meno produttivi rispetto al portainnesto standard M9. Per mantenere le caratteristiche di resistenza e migliorare il valore agronomico del portainnesto, i genotipi di *M. sieboldii* resistenti sono stati incrociati all'interno del progetto SMAP con il portainnesto standard M9 (Bisognin *et al.* 2009; Seemüller *et al.* 2010a; Seemüller e Harries 2010; Jaraus *et al.* 2010; 2011b). Lo sviluppo di marcatori di ripetizione di sequenza semplice (SSR) e la selezione di veri cloni ricombinanti hanno rappresentato

gegenüber einer Infektion mit der Apfeltriebsucht: 'Lord Lambourne' (Friedrich 1993), 'Clivia', 'Herma' (Friedrich und Rode 1996), 'Roja de Benejama' (Invasive Species Compendium 2017), 'Antonovka', 'Cortland', 'Spartan', 'Yellow Transparent', 'Wealthy' (Németh 1986; Thakur und Handa 1999), 'Melrose' (Richter 2003), 'Goldstar', 'Rubinola', 'Lotos' und 'Rosana' (Pflanzenschutzdienst Baden-Württemberg 2003). Die Toleranzbewertung dieser Sorten basiert jedoch auf empirischen Feldbeobachtungen bzgl. des Auftretens von Apfeltriebsuchtsymptomen und nicht auf einem Screening durch gezielte Infektionsversuche. Seemüller und Kollegen (1992) führten als erste eine systematische Untersuchung unter Verwendung verschiedener Genotypen durch. Diese Untersuchung umfasste hunderte *Malus × domestica* Unterlagen sowie Genotypen des Wild- und Zierapfels. Die Unterlagen wurden durch Veredelung mit 'Ca. P. mali' infiziert und die Symptomausprägung in Langzeit-Feldversuchen untersucht. Dies führte zu der Beobachtung, dass reduzierte Symptomausprägung und/oder niedrigere bakterielle Konzentrationen in den infizierten Pflanzen nur in einigen experimentellen apomiktischen Unterlagen zu beobachten waren. Diese apomiktischen Unterlagen sind alle genetische Varianten von *Malus sieboldii* (Kartte und Seemüller 1991; Seemüller *et al.* 1992; 2008; 2018; Bisognin *et al.* 2008b; Seemüller und Harries 2010) und eignen sich nicht direkt für den Erwerbsanbau. Auf diese Sorten gepfropften Edelreiser entwickeln meist kräftigere und weniger produktive Bäume

l'aspetto più impegnativo a causa dell'alto livello di apomissia della *M. sieboldii*. L'apomissia è la produzione di una progenie genetica identica nonostante l'impollinazione della pianta madre con una cultivar geneticamente diversa (Koltunow 1993), una caratteristica che riduce fortemente la generazione di genotipi ricombinanti. Il programma di allevamento è stato ulteriormente ostacolato dal fatto che la *M. sieboldii* ha introdotto una ipersensibilità latente ai virus del melo in alcune delle progenie e che i cloni derivati da *M. sieboldii* dovevano essere micropropagati per ottenere una produzione clonale efficiente (Bisognin *et al.* 2008b; Liebenberg *et al.* 2010). Tuttavia, uno screening per la resistenza utilizzando la tecnica di innesto *in vitro* (Jarausch *et al.* 1999) seguita da infezioni controllate ha permesso la selezione di diversi genotipi resistenti. Dati relativi a studi sul campo di otto anni hanno confermato che la resistenza potrebbe essere ereditata dalla progenie riproduttiva e che, principalmente dalla generazione 4608 x M9, sono stati identificati genotipi resistenti con proprietà pomologiche simili a M9 (Seemüller *et al.* 2018a). Questa progenie è anche tollerante ai virus latenti del melo. I portainnesti più promettenti stanno ora entrando nella fase degli studi agronomici sul campo in Germania e in Italia (Seemüller *et al.* 2018a).

als auf der Standardunterlage M9. Um die symptom-reduzierten Merkmale zu erhalten und die agronomischen Eigenschaften der Unterlage zu verbessern, wurden im Rahmen des SMAP-Projekts *M. sieboldii* Genotypen mit der Standard-Unterlage M9 gekreuzt (Bisognin *et al.* 2009; Seemüller *et al.* 2010a; Seemüller und Harries 2010; Jarausch *et al.* 2010; 2011b). Die Entwicklung von Simple Sequence Repeats (SSR)-Markern und die Auswahl der entsprechenden rekombinanten Klone stellten aufgrund der Apomixis von *M. sieboldii* eine Herausforderung dar. Apomixis ist die Produktion genetisch identischer Nachkommen trotz Bestäubung der Mutterpflanze mit einer genetisch anderen Sorte (Koltunow 1993). Apomixis reduziert die Entstehung rekombinanter Genotypen trotz Kreuzung stark. Das Zuchtprogramm wurde zusätzlich dadurch erschwert, dass die Kreuzung mit *M. sieboldii* in einigen Nachkommen zu einer Überempfindlichkeit gegen latente Apfelviren führt. Außerdem müssen die von *M. sieboldii* abgeleiteten Klone mikropropagiert werden, um eine effiziente Vermehrung zu erreichen (Bisognin *et al.* 2008b; Liebenberg *et al.* 2010). Ein Screening auf verminderte Symptomentwicklung (oder verminderte Kolonisierbarkeit durch das Phytoplasma) mit Hilfe der *in vitro*-Transplantationstechnik (Jarausch *et al.* 1999) und anschließender kontrollierter Infektion, ermöglichte die Auswahl mehrerer interessanter Genotypen. Daten aus achtjährigen Feldversuchen bestätigten, dass die Eigenschaft vererbt werden können und dass vor allem bei der Nachkommenschaft 4608 x

Piante ospiti del 'Ca. P. mali'

Il comportamento alimentare degli insetti vettori è di grande rilevanza nella diffusione del fitoplasma. Un vettore polifago può inoculare una più ampia varietà di specie vegetali rispetto a un vettore monofago (Weintraub e Beanland 2006). *Cacopsylla picta* è descritto come monofago del melo (*Malus* spp. e *M. × domestica*) (Ossianilsson 1992; Weintraub e Beanland 2006; Alma *et al.* 2015). Mentre *C. melanoneura* viene descritto come ampiamente oligofago del biancospino (*Crataegus* spp.) e del melo (Ossianilsson 1992; Tedeschi *et al.* 2008). *Fieberiella florii* è polifago, si nutre di diverse piante, principalmente di Rosacee (Swenson 1974; Tedeschi e Alma 2006).

Usando la rilevazione PCR, il patogeno può essere osservato in alberi infetti in natura di diverse specie selvatiche di *Malus* e di melo domestico *M. × domestica* (Seemüller *et al.* 2011a). Esistono rapporti controversi riguardanti la presenza naturale di 'Ca. P. mali' nel biancospino. Tedeschi e Alma (2007) e Tedeschi *et al.* (2009) hanno rilevato l'infezione di questa pianta in natura, tuttavia, Mayer *et al.* (2009) non hanno rilevato l'infezione nel biancospino in un altro contesto geografico. Ci sono anche diversi rapporti di rilevazione di 'Ca. P. mali' (mediante PCR) in piante selvatiche o coltivate: nocciolo (*Corylus avellana*) (Marccone *et al.* 1996), pero (*Pyrus communis*), pero Nashi (*Pyrus pyrifolia*), prugna giapponese (*Prunus salicina*) (Lee *et al.*

M9 die pomologischen Eigenschaften denen von M9 sehr ähnlich sind (Seemüller *et al.* 2018a). Diese Nachkommenschaft ist auch gegenüber latenten Apfelviren tolerant. Die vielversprechendsten Unterlagen werden derzeit in agronomischen Feldstudien in Deutschland und Italien getestet (Seemüller *et al.* 2018a).

Wirtspflanzen von 'Ca. P. mali'

Das Wirtspflanzenspektrum des Insektenvektors ist von hoher Relevanz für die Ausbreitung von Phytoplasmen. Ein polyphager Vektor kann theoretisch eine größere Anzahl von Pflanzenarten inokulieren als ein monophager Vektor (Weintraub und Beanland 2006). *C. picta* wird als monophager Schädling am Apfel beschrieben (*Malus* spp. und *M. × domestica*) (Ossianilsson 1992; Weintraub und Beanland 2006; Alma *et al.* 2015), wohingegen *C. melanoneura* als weitgehend oligophager Vektor an Weißdorn (*Crataegus* spp.) und an Apfel (Ossianilsson 1992; Tedeschi *et al.* 2008) gilt. *F. florii* ist polyphag und ernährt sich von verschiedenen Pflanzen, hauptsächlich jedoch von Rosazeen (Swenson 1974; Tedeschi und Alma 2006).

Mittels PCR-Nachweis konnte natürliche Infektionen mit 'Ca. P. mali' in unterschiedlichen Wild- und Kulturapfelsorten nachgewiesen werden (Seemüller *et al.* 2011a). Hinsichtlich des natürlichen Vorkommens von 'Ca. P. mali' im Weißdorn gibt es widersprüchliche Berichte.

1995), carpino (*Carpinus betulus*), convolvolo (*Convolvulus arvensis*) (Seemüller 2002), ciliegio dolce (*Prunus avium*) e quercia (*Quercus robur* e *Quercus rubra*) (Seemüller et al. 2011a).

In esperimenti di inoculazione tramite innesto, 58 specie e sottospecie di *Malus* ornamentali e selvatiche nonché 40 ibridi di diverse specie di *Malus*, che erano usati come portainnesti, potevano essere infettati dal 'Ca. P. mali' (Kartte e Seemüller 1988, 1991). Tuttavia, il biancospino non può essere infettato con successo a livello sperimentale (Mayer et al. 2009). Come descritto nel capitolo "Trasmissione di 'Ca. P. mali' indipendente da insetti vettori", 'Ca. P. mali' può anche essere trasmesso per via sperimentale ad altre specie di piante tramite la cuscuta o per innesto.

Con questi metodi, 'Ca. P. mali' potrebbe essere trasmesso alla pervinca (*Catharanthus roseus*) (Marwitz et al. 1974; Carraro et al. 1988), al sedano (*Apium graveolens*) e al pomodoro (*Solanum lycopersicum*) (Seemüller et al. 2011a), così come a diverse specie di tabacco *Nicotiana occidentalis*, *N. tabacum*, *N. clevelandii*, *N. quadrivalvis* (Seemüller et al. 2011b; Luge et al. 2014) e *N. benthamiana* (Boonrod et al. 2012).

Il ruolo potenziale delle summenzionate piante ospiti di 'Ca. P. mali' per la diffusione dell'AP non è chiaro, poiché una trasmissione positiva sul campo richiede anche un insetto vettore che si nutra del floema della rispettiva pianta ospite e sia adatto alla trasmissione

Tedeschi und Alma (2007) sowie Tedeschi et al. (2009) konnten in Italien auf natürliche Weise infizierten Weißdorn nachweisen. Mayer et al. (2009) hingegen fanden diesen in Deutschland nicht. Es liegen außerdem mehrere Berichte über einen PCR-Nachweis von 'Ca. P. mali' in folgenden Wild- und Kulturpflanzen vor: Haselnuss (*Corylus avellana*) (Marcone et al. 1996), Birne (*Pyrus communis*), Nashi Birne (*Pyrus pyrifolia*), japanische Pflaume (*Prunus salicina*) (Lee et al. 1995), Hainbuche (*Carpinus betulus*), Winde (*Convolvulus arvensis*) (Seemüller 2002), Süßkirsche (*Prunus avium*) und Eiche (*Quercus robur* und *Quercus rubra*) (Seemüller et al. 2011a).

In Übertragungsversuchen konnten 58 Zier- und Wild-*Malus* Arten und -unterarten sowie 40 Hybride verschiedener *Malus* Arten, die als Unterlage verwendet wurden, durch Pfropfung mit 'Ca. P. mali' infiziert werden (Kartte und Seemüller 1988, 1991). Weißdorn allerdings konnte im Versuch bisher nicht erfolgreich infiziert werden (Mayer et al. 2009). Wie im Kapitel „Insektenvektor-unabhängige Übertragung von 'Ca. P. mali' - Wurzelverwachsungen und Übertragung durch Veredelung“ beschrieben, kann 'Ca. P. mali' auch experimentell durch Teufelszwirn oder Veredelung auf andere Pflanzenarten übertragen werden. Mit diesen Verfahren konnten Immergrün (*Catharanthus roseus*) (Marwitz et al. 1974; Carraro et al. 1988), Sellerie (*Apium graveolens*), Tomate (*Solanum lycopersicum*) sowie die verschiedenen Tabakarten *Nicotiana occidentalis*, *N. tabacum*, *N. clevelandii*, *N. quadrivalvis*

di 'Ca. P. mali'. Finora, non vi è alcuna prova di un coinvolgimento di piante selvatiche diverse dal biancospino come serbatoi per il patogeno nel ciclo epidemico.

Interazioni tra comunità microbica endofitica e fitoplasmi

Il microbioma vegetale è l'insieme dei microrganismi che vivono dentro o su una pianta. Svolge un ruolo fondamentale nella salute delle piante e nella loro produttività (come esaminato in Turner *et al.* 2013). I batteri non patogeni che si trovano all'interno dei tessuti vegetali sono chiamati batteri endofiti e l'entità di questi batteri colonizzanti vegetali costituisce l'endosfera. Questa endosfera è densamente popolata da endofiti microbici non patogeni che popolano tutte le possibili nicchie all'interno della pianta (Hardoim *et al.* 2015). La colonizzazione endofitica dei vasi xilematici è stata frequentemente presa in esame (Germaine *et al.* 2004; Compant *et al.* 2005; Lòpez-Fernández *et al.* 2015), e anche il floema, la parte della pianta ad accesso più limitato per i microbi, è - almeno in minima parte - colonizzata dagli endofiti (Bulgari *et al.* 2011; Pažoutová *et al.* 2012; Hilf *et al.* 2013).

L'infezione da fitoplasmi influisce sulla composizione delle comunità endofitiche ed è ipotizzabile che gli endofiti microbici possano a loro

(Seemüller *et al.* 2011a; Luge *et al.* 2014) und *N. benthamiana* (Boonrod *et al.* 2012) experimentell infiziert werden (Seemüller *et al.* 2011a).

Die potenzielle Rolle der oben erwähnten Wirtspflanzen für die Verbreitung der Apfeltriebsucht bleibt unklar, da für die erfolgreiche natürliche Übertragung im Feld außerdem ein kompatibler Insektenvektor vorhanden sein muss, der sich vom Phloem der jeweiligen Wirtspflanze ernährt und 'Ca. P. mali' übertragen kann. Bisher gibt es keine Hinweise auf eine Beteiligung anderer Wildpflanzen außer Weißdorn (in Italien) als natürliches Reservoir des Erregers.

Wechselwirkungen zwischen der endophytischen Bakteriengemeinschaft und Phytoplasmen

Die Gesamtheit der Mikroorganismen, die in oder auf einer Pflanze leben wird als das pflanzliches Mikrobiom bezeichnet. Dieses Mikrobiom spielt eine fundamentale Rolle bei der Pflanzengesundheit und Produktivität (Turner *et al.* 2013). Nicht-pathogene Bakterien, die sich im Inneren des Pflanzengewebes befinden, sogenannte endophytische Bakterien besiedeln verschiedene Nischen innerhalb der Pflanze, u.a. das Xylem (Germaine *et al.* 2004; Compant *et al.* 2005; Lòpez-Fernández *et al.* 2015), und das Phloem (Bulgari *et al.* 2011; Pažoutová *et al.* 2012; Hilf *et al.* 2013).

volta influenzare il processo infettivo o innescare il recupero della pianta (Kamińska *et al.* 2010; Grisan *et al.* 2011; Bulgari *et al.* 2011; 2014). Alcuni studi esplorano come il microbioma vegetale allevia le malattie da fitoplasma focalizzate su simbiosi micorriziche (Lingua *et al.* 2002; Garcia-Chapa *et al.* 2004).

Un effetto dell'endofita fungino di controllo biologico *Epicoccum nigrum*, molto diffuso e ben caratterizzato, per quanto riguarda l'infezione da 'Ca. P. mali' è stato documentato nella pianta modello *Catharanthus roseus* (Musetti *et al.* 2011a). Questo studio ha dimostrato che il coinoculo di *E. nigrum* in *C. roseus* infetto da 'Ca. P. mali' porta ad una riduzione dei sintomi di AP. Tuttavia, i meccanismi sottostanti l'interazione *E. nigrum*-fitoplasma non sono ancora chiari. Si può solo ipotizzare che gli effetti positivi indotti da *E. nigrum* siano direttamente esercitati sull'endofita (ad esempio producendo antimicrobici attivi contro il fitoplasma) o indirettamente mediati da un'immunità alterata della pianta. Bulgari *et al.* (2012; 2014) hanno riferito che 'Ca. P. mali' influenza le comunità di endofiti batterici presenti nelle radici dei meli. Gli autori hanno osservato che nelle piante malate di AP queste comunità endofitiche erano meno diversificate e differentemente costituite rispetto a quelle presenti nelle piante non infette. L'rDNA 16S degli Pseudomonadales e Sphingomonadales è stato rilevato nelle radici di piante sane, ma non in quelle malate. Inoltre, il DNA degli Burkholderiales veniva isolato

Eine Infektion mit Phytoplasmen beeinflusst die Zusammensetzung dieser endophytischen Gemeinschaften, und es ist denkbar, dass bestimmte mikrobielle Endophyten den Infektionsprozess beeinflussen oder ein „Recovery“ der Pflanzen auslösen können (Kamińska *et al.* 2010; Grisan *et al.* 2011; Bulgari *et al.* 2011; 2014). Einige Studien, die sich mit dem Effekt des pflanzlichen Mikrobioms auf die Phytoplasmeninfektion beschäftigen, untersuchen in diesem Zusammenhang insbesondere die Rolle von Mykorrhiza Symbiosen (Lingua *et al.* 2002; Garcia-Chapa *et al.* 2004). Die Wirkung des weit verbreiteten und gut charakterisierten Endophyten *Epicoccum nigrum* auf eine AP-Infektion wurde in der Modellpflanze *Catharanthus roseus* untersucht (Musetti *et al.* 2011a). In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die Co-Inokulation von *E. nigrum* in 'Ca. P. mali' infizierten *C. roseus* Pflanzen zu einer Reduktion der AP-Symptome führt. Die zugrunde liegenden Mechanismen der Interaktionen zwischen dem Phytoplasma und *E. nigrum* sind allerdings noch unklar. Es ist ebenfalls unklar, ob die positiven Effekte direkt von *E. nigrum* ausgeübt werden (z. B. durch die Produktion von antimikrobiellen Wirkstoffen gegen das Phytoplasma) oder indirekt durch eine veränderte pflanzliche Immunität. Bulgari *et al.* (2012; 2014) schließen aus den Ergebnissen ihrer Studie, dass 'Ca. P. mali' die natürlich-vorkommende bakterielle Endophytengemeinschaft in den Wurzeln von Apfelbäumen beeinflusst. Die Autoren beobachteten, dass in von Apfeltriebsucht befallenen Pflanzen diese Endophytengemeinschaften

più frequentemente in radici sane che in quelle malate. Alcuni taxa batterici come Xanthomonadales, Actinomycetales, Legionellales e Acidimicrobiales preferiscono colonizzare le piante infette. D'altra parte, le colonie di *Lysinibacillus* venivano isolate solamente in piante sane (Bulgari *et al.* 2012).

Diversi microrganismi associati a piante malate non infette o affette da AP comprendono ceppi che sono noti per esercitare un potenziale controllo biologico o con un ruolo protettivo contro alcuni patogeni vegetali (Duffy e Défago 1999; Ait Barka *et al.* 2000; Schouten *et al.* 2004; Kavino *et al.* 2007; Compant *et al.* 2008; Choudhary e Johri 2009; Verhagen *et al.* 2010; Trivedi *et al.* 2011).

È noto che molti endofiti producono metaboliti secondari e altri composti attivi e quindi hanno proprietà antibatteriche e antimicotiche contro i patogeni. Alcuni endofiti possono provocare dei meccanismi di difesa nelle piante e quindi agire come induttori di resistenza (come esaminato in Romanazzi *et al.* 2009 e Compant *et al.* 2013). Diversi studi hanno dimostrato che la resistenza acquisita sistemica (SAR) è coinvolta nel fenomeno del recupero (Osler *et al.* 2000; Musetti *et al.* 2005; 2007) (si veda anche il capitolo "Il fenomeno del recupero"). Pertanto, comprendere il ruolo degli endofiti durante l'induzione del recupero delle piante infette da AP è un fattore interessante poiché potrebbe fornire una possibilità di identificare una misura di controllo sostenibile contro l'AP.

weniger vielfältig und unterschiedlich aufgebaut waren als in nicht infizierten Pflanzen. Die 16S rDNA von Pseudomonadales und Sphingomonadales konnte in Wurzeln von gesunden, aber nicht in kranken Pflanzen nachgewiesen werden. Burkholderiales wurden ebenfalls häufiger aus gesunden Wurzeln als aus kranken Wurzeln isoliert. Bestimmte Bakterientaxa wie Xanthomonadales, Actinomycetales, Legionellales und Acidimicrobiales scheinen bevorzugt infizierte Pflanzen zu besiedeln, hingegen wurde *Lysinibacillus* nur aus gesunden Pflanzen isoliert (Bulgari *et al.* 2012).

Von einigen Stämmen der Mikroorganismen, die entweder mit nicht infizierten oder mit Apfeltriebsucht infizierten Pflanzen in Verbindung gebracht werden konnten, ist bekannt, dass sie ein gewisses protektives Potenzial gegen bestimmte Pflanzenpathogene aufweisen (Duffy und Défago 1999; Ait Barka *et al.* 2000; Schouten *et al.* 2004; Kavino *et al.* 2007; Compant *et al.* 2008; Choudhary und Johri 2009; Verhagen *et al.* 2010; Trivedi *et al.* 2011).

Einige Endophyten produzieren Sekundärmetabolite und andere aktive Wirkstoffe und weisen somit antibakterielle und antimykotische Eigenschaften auf. Außerdem können bestimmte Endophyten pflanzliche Abwehrmechanismen stimulieren und dienen daher als Resistenzinduktoren (Romanazzi *et al.* 2009 und Compant *et al.* 2013). Mehrere Studien haben gezeigt, dass die systemisch erworbene Resistenz (Systemic Acquired Resistance - SAR) am „Recovery“-Phänomen beteiligt ist

Studi recenti hanno mostrato risultati preliminari su un'attività promettente relativa a un insieme di microrganismi simbiotici isolati da piante ospiti e insetti vettori di fitoplasmi. Questi includono un batterio delle Xanthomonadaceae e diversi isolati di Bacilli (Naor *et al.* 2015). In particolare, il batterio tipo *Dyella* (DLB; lasur-Kruh *et al.* 2017b) isolato dall'emittero *Hyaesthes obsoletus*, il principale vettore del 'Ca. P. solani' (agente eziologico della malattia del Bois noir, il cosiddetto legno nero della vite, Quaglino *et al.* 2013), era in grado di inibire la crescita del Mollicute *Spiroplasma melliferum* coltivabile (un modello per gli studi sull'inibizione del fitoplasma, Naor *et al.* 2011). Inoltre, il DLB ha ridotto la gravità dei sintomi e ha portato a un aumento del tasso di recupero delle piante infette (lasur-Kruh *et al.* 2017a; Naor *et al.* 2017).

In base a queste recenti scoperte, microrganismi non specifici, ovvero che condividono gli organismi ospiti (piante e insetti) con il rispettivo patogeno, potrebbero rappresentare la chiave per un nuovo approccio, finora esplorato con difficoltà, per scoprire nuovi strumenti di biocontrollo microbico anche contro l'AP.

(Osler *et al.* 2000; Musetti *et al.* 2005; 2007) (siehe Kapitel „Das Recovery-Phänomen“). Es ist wichtig die Rolle von Endophyten insbesondere beim „Recovery“ besser zu verstehen, denn dies könnte zukünftig neue Wege für nachhaltige Bekämpfungsstrategien gegen AP eröffnen.

In einer Studie konnte gezeigt werden, dass bestimmte symbiotische Mikroorganismen, die aus Wirtspflanzen und Insektenvektoren isoliert wurden, ebenfalls als interessante Gegenspieler des Phytoplasmas in Frage kommen. Zu diesen Mikroorganismen gehören ein Xanthomonadaceae und mehrere *Bacillus* Isolate (Naor *et al.* 2015). Insbesondere das *Dyella*-artige Bakterium (DLB; lasur-Kruh *et al.* 2017b) aus der Zikade *Hyaesthes obsoletus*, dem wichtigsten Vektor von 'Ca. P. solani', dem Erreger der Schwarzholzkrankheit der Rebe (Quaglino *et al.* 2013), konnte das Wachstum von *Spiroplasma melliferum* hemmen (Naor *et al.* 2011). Spiroplasma sind kultivierbare Bakterien der Klasse Mollicutes und den Phytoplasmen in einigen Aspekten ähnlich. Sie wurden daher als Modellorganismus für Versuche zur Phytoplasmenhemmung verwendet. Die Verwendung von DLB reduzierte die Schwere der Symptome der Schwarzholzkrankheit der Rebe und führte zu einer erhöhten „Recovery“-Rate in infizierten Pflanzen (lasur-Kruh *et al.* 2017a; Naor *et al.* 2017). Der Einsatz nicht-pathogener Mikroorganismen, die beide Wirtsorganismen des Phytoplasma besiedeln, könnte daher einen neuartigen, bisher kaum erforschten Ansatz als mikrobielle Kontrollstrategie auch gegen Apfeltriebsucht darstellen.