

PROBLEMI FITOPATOLOGICI DELLA COLTIVAZIONE DEL MIRTO

**Raimondo Garau¹, Vanda A. Prota¹, Samanta Paltrinieri², Giovanni Tolu¹,
Aimone Sechi¹, Assunta Bertaccini²**

¹Dipartimento di Protezione delle Piante–sezione di Patologia vegetale,
Università degli Studi, via De Nicola 9, 07100, Sassari, Italy

²DiSTA, Patologia vegetale, Alma Mater Studiorum,
Università di Bologna, viale Fanin, 42, 40127 Bologna, Italy

Riassunto

Myrtus communis L., sostiene in Sardegna la filiera agro-alimentare con una produzione liquoristica particolarmente apprezzata dal mercato. La specie, stante la sua valenza sull'economia regionale, è stata oggetto di studi che hanno delineato le tecniche di domesticazione ed espresso linee selettive di pregio.

In questo lavoro si riporta una breve rassegna di casi fitopatologici pregressi ed i risultati di recenti osservazioni relativi ad affezioni da fitoplasmi.

Tra i primi, di particolare interesse vivaistico, sono sottolineati i marciumi pedali da *Phytophthora nicotianae* e *P. italica*, nonché le gravi menomazioni operate da *Cylindrocladium pauciramosum* e da *C. scoparium* rispettivamente all'apparato radicale e fogliare delle piante.

Indagini recenti, eseguite nel Nord Sardegna in campi di comparazione varietale, hanno evidenziato una sindrome a presunta eziologia procariotica caratterizzata da giallumi, scopazzi, microfillia e sviluppo ridotto. Studi finalizzati alla individuazione di fitoplasmi, sono stati eseguiti nell'autunno del 2004. Saggi molecolari effettuati con PCR e “nested”PCR, seguiti da RFLP, hanno permesso l'identificazione di fitoplasmi appartenenti ai sottogruppi ribosomici 16SrIII-B (ceppo di riferimento “Peach X disease”), 16SrX-A (ceppo di riferimento “Apple proliferation”) e 16SrXII-A (ceppo di riferimento “Stolbur”), anche in infezioni miste tra loro.

Sono stati valutati, i possibili ruoli epidemiologici del materiale di moltiplicazione e della entomofauna presente, nonché alcuni interventi di risanamento.

Parole-chiave: mirto, fitopatie, fitoplasmosi, PCR, RFLP, epidemiologia.

Abstract

Myrtus communis L., is mainly used in the food industry for the production of both a red and a white traditional sardinian liquor. Given the important of this plant species for the regional economy, many studies have been made to strenghten our knowledge on the different cultivation techniques and on the potentiality of the different cultivars.

In the first part of this work a short review of the main Myrtle diseases is presented with special enphasis nursery diseases induced by *Phytophthora* ssp., *P. nicotinae*, and *P. italica*, and by *Cylindrocladium pauciramosum* and *C. scoparium*, that seriously affect plant vitality .

Secondly we refer on a severe series of symptoms, observed during recent experimental surveyes carried out in Northern Sardinian, and apparently related to phytoplasma infections.

Here we describe our studies aimed to assess the phytoplasmas presence on the lives of symptomatic plants collected from two different fields. A series of molecular assays with PCR and nested-PCR followed by RFLP allowed to identify the presence of 16SrIII-B phytoplasma (reference strain “Peach X disease”), 16SrX-A subgroup (reference strain “Apple proliferation”) and 16SrXII-A (reference strain “Stolbur”) in the plant samples. Epidemiological role of the plant material used for myrtle propagation and of the Auchenorrhyncha populations present in the field, are discussed, as well as, disease control.

Key-words: Myrtle, disease, phytoplasmas, PCR, RFLP, epidemiology.

Premessa

Myrtus communis L., è un arbusto sempreverde tipicamente mediterraneo; in Italia lo si ritrova spesso consociato ad altre specie della “macchia”.

In Sardegna occupa delle estensioni considerevoli; si adatta a condizioni pedoclimatiche differenti, anche marginali, ma predilige terreni bene esposti, neutri o subacidi, drenati; il suo limite altimetrico non supera i 7-800 metri slm (Camarda e Valsecchi, 1983; Scortichini, 1986; Mulas *et al.*, 1998).

La specie ha applicazioni produttive nel settore alimentare, in cosmetica, in farmaceutica (Pirisino *et al.*, 1996) nonché nei settori foraggiero ed ornamentale (Bullitta e Spanu, 1976; Mulas *et al.*, 1997).

Il mirto, con bacche o/e foglie, offre la materia prima, per l’ottenimento, per via industriale o artigianale dell’omonimo liquore, la cui produzione attuale è superiore ai tre milioni di bottiglie /anno (Mulas, 2003).

Recentemente la crescita economica della coltura è stata supportata da un notevole impegno della ricerca che ha mirato alla domesticazione della specie e, nello specifico, allo studio delle sue esigenze edafiche ed agronomiche (Bullitta *et al.*, 1996; Nieddu, 1999).

Da un impegno decennale, sono derivati risultati importanti mirati alla gestione produttiva della specie. Tra questi, di rilievo, è il lavoro di selezione e caratterizzazione di cultivar a spiccata valenza produttiva (Mulas, 1999, Mulas *et al.*, 2002).

Per questa essenza, l’interesse sanitario ha avuto da sempre una scarsa rilevanza per la limitata gravità e frequenza di fatti epidemici.

La sua domesticazione crea, però, l’instaurarsi, verosimilmente, di nuovi equilibri nell’ecosistema con l’incremento di “nuove” presenze biotiche: insetti e patogeni di differente natura. L’ospite risponde, quindi, all’attività invasiva del parassita esprimendo, nel tempo, reazioni sintomatiche sempre più definite.

Aspetti sanitari pregressi

Dagli anni ’80 ad oggi, la bibliografia fitopatologica del mirto, risulta povera di riferimenti. Sono scarni quelli di tipo batterico, mentre più significativi sono quelli di origine fungina e sporadici quelli di natura fitoplasmatica.

Produzioni tumorali da *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* sono state osservate in Libano (Saad e Melkonian, 1992), mentre tubercoli rameali, verosimilmente attribuibili alla stesso batterio, sono stati notati, in anni recenti, occasionalmente, anche in Sardegna (Garau, dati non pubblicati). Bella *et al.*, (2002) riferiscono, dalla Sicilia, di saggi fisiologici condotti su ceppi di *P. savastanoi* sp. ottenuti anche da mirto.

Patogeni fungini, appartenenti a differenti specie del genere *Phytophthora* sono stati osservati nei primi anni ’90 in un vivaio del centro Sardegna (Belisario *et al.*, 1993). L’affezione, vistosa sulle piantine in vaso, induceva marciume radicale e del colletto con conseguenze letali per i semenzali. Da piante sintomatiche sono state isolate *Phytophthora nicotianae* e *P. iranica*, quest’ultima indicata in studi successivi come *P. italica* n. s. (Cacciola *et al.*, 1996). Marciume da miceti dello stesso genere sono stati segnalati successivamente in coltivazioni liguri su piante da fiore e da fronda incluse alcune di *Myrtus* sp. (Rapetti *et al.*, 2000).

Una grave affezione con possibile esito letale è stata segnalata recentemente in California (Koike e Crous, 2001). La malattia, causata dal micete *Cylindrocladium pauciramosum*, si esprimeva con marciumi radicali e del colletto e con produzioni tumorali sui rami. Lo stesso agente è stato segnalato, con esiti ugualmente gravi, in Portogallo nel 2003 (Henricot & Beales, 2003).

Relativamente ai patogeni fogliari, un’importanza specifica viene attribuita al micete *Cylindrocladium scoparium*. La prima segnalazione su Mirto risale al 1988, in California

(Lutz *et al.*, 1988). La sua azione patogena era vistosa nei vivai dove assumeva carattere epidemico; le piante colpite defogliano, deperiscono, mostrano disseccamenti dei rami ed estesa mortalità. In Italia è stata osservata per la prima volta nel 1996 in vivai meridionali dove induceva defogliazioni, marciumi radicali e moria dei semenzali. Le infezioni *fungine* avevano un decorso estivo-autunnale ed erano promosse da alte temperature ed umidità. In prove di lotta la malattia è stata controllata, con buoni risultati, con l'impiego di prodotti rameici (ossicloruri) (Polizzi e Atzaro, 1996). Lo stesso anno Polizzi conferma la presenza del patogeno su mirto e su altre mirtacee.

Attuali, per la loro singolarità sintomatica e per la natura dell'eziologia, sono le alterazioni causate da fitoplasmi. Questi procarioti sistemici, a localizzazione floematica, sono patogeni di piante coltivate e spontanee associati a sindromi complesse caratterizzate da difetto di lignificazione, rachitismo, scopazzi, microfillia, giallumi e, in piante da fiore, da virescenza. Le piante affette, fruttiferi in particolare, possono andare incontro a risanamento spontaneo o "recovery", spesso temporaneo, del quale non sono noti gli elementi incitanti, né la sua importanza nel recupero produttivo dell'ospite.

La prima segnalazione si deve a Camele *et al.* (1996), i quali, in saggi molecolari eseguiti in piante mostranti giallume, scopazzi e disseccamenti rameali, dimostrarono la presenza di acido nucleico ascrivibile a fitoplasmi. In esami successivi (Camele *et al.*, 1999), condotti in piante sintomatiche, dimostrarono l'afferenza delle predette entità al gruppo ribosomico del giallume dell'astro (AY), sottogruppo 16SrI-B.



Figura 1. Mirto: vegetazione procombente e microfillia.

Osservazioni recenti.

Piante di mirto con sintomi di appiattimento sui germogli e con produzioni primaverili affastellate sono state notate, sporadicamente in questi anni, nel sassarese, ma verifiche di laboratorio, indirizzate alla presenza di procarioti, hanno dato sempre esiti negativi.

Nuove segnalazioni, riferibili per la loro peculiarità sintomatica all'azione di fitoplasmi, sono pervenute dai Colleghi del Dipartimento di Economia e Sistemi Arborei, consentendo ulteriori e più approfonditi esami.

Quanto di seguito riportato è largamente tratto da una relazione (Garau *et al.*, 2005) presentata al 3° Convegno Nazionale sulle Malattie da Fitoplasmi tenutosi a Milano dal 22 al 24 giugno del corrente anno.

Materiali e metodi

Il sopralluogo è stato eseguito nella tarda estate del 2004 in due località del Nord Sardegna, su parcelle varietali di mirto di tre e sette anni, impiantati per talea.

In entrambi i casi erano diffuse reazioni sintomatiche di tipo epidemico caratterizzate da mancato sviluppo, giallume, scopazzi e grave microfillia. L'alterazione, evocava quanto riportato per altre regioni meridionali da Camele *et al.* (1996; 1999).

L'estensione del fenomeno, e le differenze varietali non hanno permesso una rapida standardizzazione dei caratteri sintomatici. Lo sviluppo vegetativo delle varie cultivar e più spesso il portamento della chioma erano appiattite da un evidente stato infettivo che conferiva alle piante delle erronee caratteristiche botaniche.

Si è ritenuto tuttavia di individuare, della sintomatologia, le seguenti singole componenti:

- giallume; era prevalente su piante di alcune cultivar ed a scacchiera su altre. Si estendeva parzialmente o su gran parte della chioma o solamente su alcune foglie. La sua presenza nella parcella non era significativa;
- vegetazione stentata; sintomo diffuso, si accompagnava ad una scarsa produzione vegetativa con germogli corti e foglie di dimensioni ridotte;
- scopazzi; produzioni vegetative affastellate con sviluppo contemporaneo ed anzitempo di gemme dormienti, produzione di germogli ascellari plurimi ad internodi corti e numerosi, nodi doppi e spiccata microfillia;
- vegetazione procombente; in relazione probabilmente ad una mancata lignificazione dei germogli che tendevano a ricadere sul terreno; tale comportamento, specifico di alcune cv, interessava prevalentemente i germogli medio-bassi mentre gli apicali della chioma si conservano assurgenti. Su diverse unità il fenomeno si accentuava conferendo alla vegetazione un aspetto cusciniforme.

Quanto esposto era identificabile, in prevalenza, su alcune linee varietali o su piante isolate, prescindendo dalla cv.

Le reazioni riconducevano ad una generica eziologia fitoplasmatica ma erano nuove per una più precisa attribuzione sistematica dell'agente/i causale.

Saggi di laboratorio

Campioni fogliari di piante sintomatiche, provenienti dai due campi varietali, sono stati prelevati ed avviati alle indagini di laboratorio nel mese di settembre del 2004.

I saggi svolti su base molecolare hanno avuto il seguente percorso:

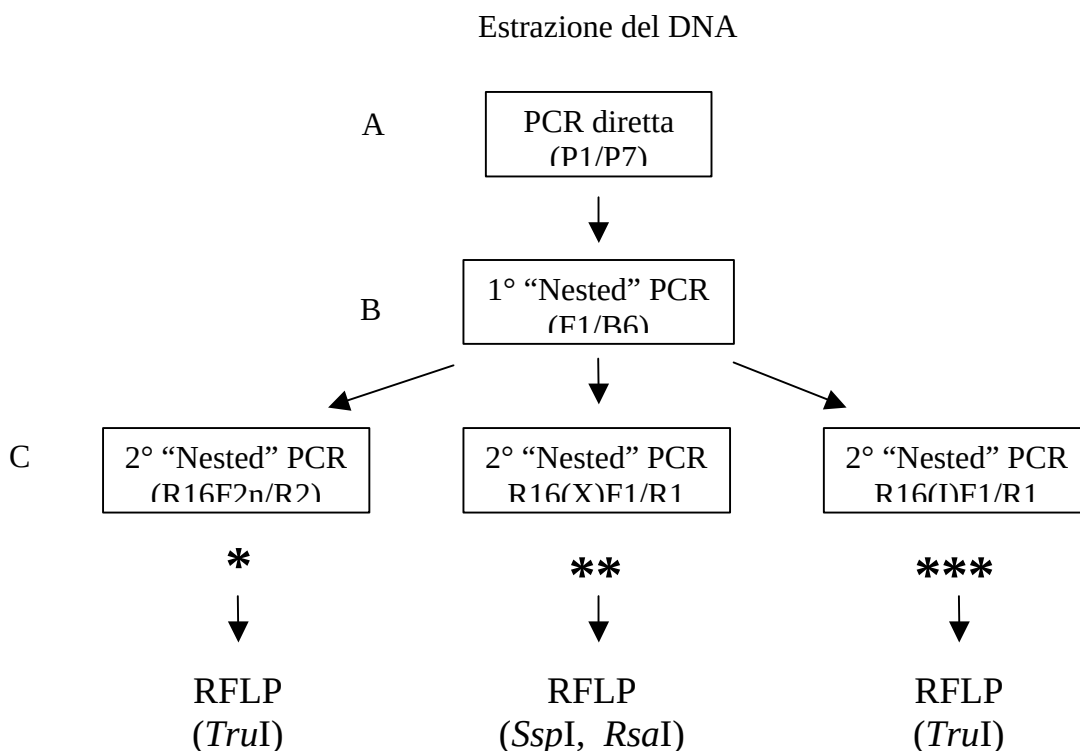
- estrazione del DNA; eseguita secondo Doyle and Doyle (1990), utilizzando 1 g di tessuto nervale;
- amplificazione genica (PCR); l'acido nucleico estratto è stato avviato ad una prima amplificazione mediante una PCR diretta utilizzando gli oligonucleotidi P1 (Deng e Hiruki, 1991) P7 (Schneider *et al.*, 1995). Questa fase aveva il compito di incrementare una porzione altamente conservata dell'acido nucleico, che codifica per l'RNA ribosomiale (16S rDNA) comprendente anche la regione spaziatrice del DNA del patogeno ritenuto presente.

Il prodotto è stato sottoposto ad una prima nested-PCR con i primers specifici F1 (Davis e Lee, 1993) B6 (Padovan *et al.*, 1995) seguita, sull'amplificato, da un ulteriore nested con i primers R16F2n/R2 (Gundersen *et al.*, 1996). Il prodotto derivato dall'ultima nested è stato quindi avviato ad indagine RFLP mediante l'enzima di restrizione *TruI*.

Gli esiti della digestione, in RFLP con *TruI*, hanno suggerito un approfondimento che è stato eseguito sull'amplicone ottenuto dai primers F1/B6 amplificato a sua volta con una seconda nested-PCR con R16(X)F1/R1 (Lee *et al.*, 1994). Successivi saggi RFLP, con gli enzimi *SspI* e *RsaI*, hanno chiarito l'identità dei fitoplasmi individuati.

Ulteriori nested-PCR sono state eseguite, anche in questo caso, sull'amplificato ottenuto da F1/B6, con i primers R16(I)F1/R1 (Lee *et al.*, 1994). Un'ultima analisi RFLP con *TruI* ha offerto un quadro di lettura conclusivo.

Il procedimento, riportato nel seguente schema, è stato suggerito dagli esiti parziali ottenuti durante lo svolgimento dei saggi.



Ogni ciclo di amplificazione prevedeva 1 minuto di denaturazione a 94°C, 2 min a 54°C per l'appaiamento delle basi complementari dei primers su quelle dell'acido nucleico bersaglio e 3 min a 72°C, nell'ultimo ciclo protratta per 10 min, per consentire l'allungamento della sequenza polinucleotidica in amplificazione.

Al termine di ogni "nested" 6 µl di ciascun prodotto amplificato venivano sottoposti ad elettroforesi orizzontale in gel di agarosio al 1% e la reazione visualizzata in un transilluminatore, previa colorazione con bromuro di etidio all'1% in acqua.

Alla pari le digestioni enzimatiche sono state evidenziate in elettroforesi verticale in gel di poliacrilammide al 5% colorato con bromuro di etidio ed osservate sotto luce ultravioletta.

Risultati

Dai campioni sintomatici, a testimonianza della presenza di entità di natura fitoplasmatica, è stato ottenuto dell'acido nucleico procariotico, ulteriormente amplificato con la 1° nested-PCR (primers F1/B6). L'ulteriore nested con i primers specifici R16F2n/R2, e la successiva RFLP, con gli enzimi di restrizione *TruI* (linea A,B,C,*) hanno dimostrato la presenza, in cinque campioni su sei, di fitoplasmi del gruppo 16SrX, ("Apple proliferation") e su uno solo, di fitoplasmi 16SrIII-B, "Clover yellow edge" (gruppo Peach X disease).

Successivamente il percorso A,B,C,** ha permesso di collocare i cinque campioni nel loro sottogruppo di appartenenza 16SrX-A, ceppo di riferimento "Apple proliferation". In RFLP, due campioni avevano indicato, in saggi elettroforetici finali, probabili infezioni miste. La linea A,B,C,*** conclusasi con RFLP e con l'utilizzo di *TruI* ha confermato, negli ultimi due casi, la doppia infezione di fitoplasmi 16SrX-A (AP) e 16SrXII-A (Stolbur).

Conclusioni

Il procedimento utilizzato ha permesso, in campioni sintomatici di mirto, di individuare la presenza di patogeni che, seppur chiaramente identificati, non è stato possibile correlare, con le singole sintomatologie menzionate.

Indagini tendenti a chiarire le reattività varietali ai differenti fitoplasmi determinati, sono in fase di svolgimento. In quest'ambito sarebbe utile, chiarire i possibili rapporti di sinergismo

tra i differenti gruppi di procarioti coinvolti nella infezione e gli eventuali caratteri di resistenza o di suscettibilità delle linee ospiti che potrebbero indurre ad erronee attribuzioni eziologiche.

La sindrome, osservata su mirto in Sardegna, ha confermato come in altri casi (Camele *et al.*, 1996; Camele *et al.*, 1999) la suscettibilità della specie alle infezioni da gruppi differenti di procarioti. Nello specifico le recenti segnalazioni (Garau *et al.*, 2005), riproposte in questa occasione, dimostrano che il mirto può subire infezioni da fitoplasmi del sottogruppo ribosomico 16SrIII-B, di 16SrX-A e 16SrXII-A. Non sono stati finora identificati fitoplasmi del sottogruppo 16SrI-B descritti in altre aree dell'Italia meridionale (Camele *et al.*, 1996; 1999).

Tra tutti, di interesse, sono quelli afferenti al gruppo 16SrX-A che inducono sulle pomacee gravi disordini vegetativi e decrementi produttivi (Osler *et al.* 1996). In natura essi sono trasmessi dagli psillidi *Cacopsylla costalis* (Tomasini *et al.*, 2000), *C. melanoneura* (Tedeschi *et al.*, 2002) *C. crataegi*, *C. peregrina* e *C. picta* (Tedeschi *et al.*, 2005).

Vettore putativo di 16SrX-A è risultata in Sardegna la specie *Exitianus taeniaticeps* catturata su specie erbacee in prossimità di un impianto viticolo dell'oristanese (Garau *et al.*, dati non pubblicati).

Fra gli altri, i fitoplasmi del sottogruppo 16SrXII-A inducono Stolbur su solanacee coltivate (pomodoro e peperone) e sono agenti causali del "Legno nero" della vite mediato in natura dal cixide *Hyalesthes obsoletus*. Sono vettori potenziali di fitoplasmi dello stesso sottogruppo il flatide *Metcalfa pruinosa* (Mori *et al.*, 2000) e numerose specie di cicadellidi quali *Agallia laevis*, *Euscelidius variegatus*, *Goniagnathus guttulinervis* e *Anaplotettix putoni* (Battle *et al.*, 2000; Sabatè *et al.*, 2003; Garau *et al.*, 2004; Bagnoli *et al.*, 2005).

La presenza di specie di Auchenorrhinchi, tra le quali *Laodelphax striatellus* ed *Exitianus taeniaticeps*, la prima trovata infetta, in saggi preliminari, da fitoplasmi appartenenti ai sottogruppi ribosomici 16SrI-B ("Aster yellows"), 16SrIII-B ("Peach X disease") e 16SrXII-A (Stolbur) e la seconda da fitoplasmi del subgruppo 16SrX-A ("Apple proliferation"), in almeno un mirteto (Garau *et al.*, dati non pubblicati), potrebbe porgere soluzioni agli interrogativi epidemiologici dell'affezione.

La presenza di specie di cicaline infette catturate, pur indicativa, non è sufficiente ad affermare la loro efficienza vettrice che, rimane da dimostrare.

In assenza di supporti entomologici certi, nella epidemiologia un riferimento verosimile è dovuto alla sanità delle piante madri fornitrici del materiale di propagazione. Il loro stato sanitario non è al momento noto, e, d'altra parte, una presunta asintomaticità delle giovani piante figlie, non darebbe garanzie definitive sulla loro condizione iniziale. Ciò perché non è nota l'ampiezza del periodo di latenza dopo l'acquisizione del patogeno o il tempo necessario perché una plantula infetta, ma asintomatica, esprima palesemente la sua condizione. Ma vi è l'ulteriore possibilità che nella diffusione del processo infettivo vi sia stata la connessione della componente entomologica e della carenza sanitaria del materiale di propagazione, non espressa dalle giovani piante al momento della messa a dimora.

Queste tematiche sono in fase di approfondimento.

Le prospettive di contenimento dell'anomalia, potrebbero concretizzarsi a medio termine. In quest'ambito il risanamento del materiale di propagazione, per esempio, sarebbe proponibile, in considerazione della versatilità alla micropropagazione del mirto (Khosh-khui *et al.*, 1984; Scarpa *et al.*, 1994) ma abbisogna, nello specifico, di verifiche sperimentali.

Ringraziamenti

Si ringraziano le aziende Sella & Mosca e l'Agriturismo Pozzo d'Ussi per la cortese disponibilità.

Bibliografia

- Bagnoli B., Pinzauti F., Trivellone V., 2005. Indagine preliminare sugli Auchenorrhinchi potenziali vettori di Stolbur in un'area viticola del Lazio. *Atti 3° Incontro Nazionale sulle Malattie da Fitoplasmi*. Milano, 22-24 giugno 2005, 34.
- Battlé A., Martinez M.A., Lavià A., 2000. Occurrence, distribution and epidemiology of grapevine yellows in Spain. *European Journal Plant Pathology* 106, 811-816.
- Belisario A., Magnano di San Lio G., Pane A., Cacciola S.O., 1993. *Phytophthora iranica*, a new root pathogen of Myrtle from Italy. *Plant Disease*, 77, 10, 1050-1055.
- Bella P., Catara V., Sutra L., Guarino C., Cirvilleri G., Gardan L., Phenotypic characteristic of *Pseudomonas savastanoi* strains from various hosts. *6th International Conference on Pseudomonas syringae pathovar and related pathogens*, Maratea 15-19 sept. 2002. Dordrecht, Netherlands; Kluwer Academic Publishers, 681-688.
- Bullitta P., Milia M., Pinna M.E., Scarpa G.M., 1996. Prime indagini sulla risposta del *Myrtus communis* L., ad interventi agronomici. *Rivista Italiana EPPOS*, 19:111-116.
- Bullita P., Spanu A., 1976. La macchia mediterranea: una fonte di alimentazione per il bestiame. *L'informatore Agrario*, 31:23571-23574.
- Cacciola S.O., Magnano di San Lio, G., Belisario A., 1997. *Phytophthora italica* sp. nov. on myrtle. *Phytopathologia mediterranea*, 35 (3), 177-190.
- Camarda I., Valsecchi F., 1983. *Myrtaceae. Alberi e arbusti spontanei della Sardegna*. Edizioni Gallizzi, Sassari: 370-374.
- Camele I., Bertaccini A., Martini M., Rana G.L., 1999. Identificazione molecolare di fitoplasmi in piante di eucalipto e mirto con scopazzi. *Petria* 9 (3), 259-268.
- Camele I., Vibio M., Rana G.L., Bertaccini A., 1996. Studi preliminari sugli scopazzi dell'eucalipto e del mirto in Italia meridionale. *Giornate fitopatologiche* 1996, 2, 523-528.
- Davis R.E., Lee I.-M., 1993. Cluster-specific polymerase chain reaction amplification of 16SrDNA sequences for detection and identification of mycoplasma-like organisms. *Phytopathology*, 83, 1001-1008.
- Doyle J.J., Doyle J.L., 1990. Isolation of Plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13-15.
- Garau R., Prota V., Paltrinieri S., Sechi A., Tolu G., Bertaccini A., 2005. *Myrtus communis* L. nuovo ospite di fitoplasmi in Sardegna. *Atti 3° Incontro Nazionale sulle Malattie da Fitoplasmi*, Milano, 22-24 giugno 2005, 23-24.
- Garau R., Sechi A., Tolu G., Prota V.A., Lentini A., Prota U., 2004. *Goniagnathus guttulineris* (Kirshbaum) new natural host of the stolbur subgroup 16SrXII-A phytoplasma in Sardinia. Disease note: *Journal of Plant Pathology* 86(2), 177.
- Gundersen D.E., Lee I.M., Schaff D.A., Harrison N.A., Chang C.J., Davis R.E., Kingsbury D.T., 1996. Genomic diversity among phytoplasma strains in 16SrRNA Group I (Aster Yellows and related phytoplasmas) and III (X-Disease and related phytoplasmas). *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46: 64-75.
- Henricot B., Beales P., 2003. First record of *Cylindrocladium pauciramosus* on myrtle (*Myrtus communis*) on Portugal. *Plant Pathology* (2003) 52 (3), 420.
- Khosh-Khui M., Shekafandeh A., Azarakhsh H., 1984. Micropropagation of myrtle. *Science Horticultural* 22:133-137.
- Koike S.T., Crous P.W., 2001. First report of a root and crown rot disease of Myrtle in California caused by *Cylindrocladium pauciramosum*. *Plant Disease* 85 (4), 448.
- Laviña A., Battlé A., Larrue J., Daire X., Clair D., Boudon-Padieu, E., 1995. First report of grapevine bois noir phytoplasma in Spain. *Plant Disease*, 79: 1075.
- Lee I.-M., Gundersen D.E., Hammond R.W., Davis R.E., 1994. Use of mycoplasma-like organism (MLO) group-specific oligonucleotide primers for nested-PCR assays to detect mixed-MLO infections in a single host plant. *Phytopathology*, 84:559-566.
- Lutz A., Paulus A.O., Ferrin D.M., Nelson J.A., A new disease of myrtle. *California Agriculture*, 1988, 42 (2), 24-25. March-April 1988.
- Mori N., Malagnini V., Bertaccini A., 2000. Individuazione di fitoplasmi in insetti nel Veneto.

- Petria*, 10: 145-146.
- Mulas M., 1999. Selezione varietale per la coltivazione del mirto. *Atti giornata di studio sul Mirto*. Sassari, 30 giugno 1999. 15-23.
- Mulas M., 2003. Problematiche legate alla coltivazione del mirto. *Italus Hortus*, 11(4), 308-312.
- Mulas M., Cani M.R., Brigaglia N., 1997. Caratteri di pregio per la selezione di cloni ornamentali di *Myrtus communis* L. *Atti 3° Convegno nazionale "Biodiversità-tecnologie-Qualità"*, Reggio Calabria 16-17 giugno: 133-137.
- Mulas M., Perinu B., Dias Francesconi A.H., Nieddu M.A., Fadda A., Peana I., 2002. *L'informatore Agrario*, LVIII(4), 55-59.
- Nieddu G., 1999. Primi risultati sulla coltivazione del mirto in Sardegna. *Atti giornata di studio sul mirto*, Sassari 30 giugno, 25-33.
- Osler R., Carraro L., Loi N., Gregoris A., Pavan F., Firrao G., Musetti R., Ermacora P., Loschi A., Pertot I., Refatti E., 1996. *Le più importanti malattie da fitoplasmi nel Friuli-Venezia Giulia*. Atlante. ERSA ed. pp.78.
- Pirisino G., Mulè A., Moretti M.D.L., Satta M., 1996. Studio della resa e della composizione chimica dell'olio essenziale di *Myrtus communis* L., spontaneo di Cuglieri (Sardegna). *Rivista Italiana EPPOS*, 19:159-169.
- Polizzi G., 1996. Mirtacee, ospiti naturali di *Cylindrocladium scoparium*. *Informatore fitopatologico*, 2, 59-64.
- Polizzi G., Atzaro A., 1996. A new leaf spot disease of myrtle by *Cylindrocladium scoparium* and its control in nursery. *Petria* 6 (2), 117-123.
- Rapetti S., Martini P., Repetto L., Sparago E., 2000. Nuovi ospiti di *Phytophthora* nell'ambito di specie da fiore e da fronda. *Giornate fitopatologiche*, 2000, 2, 335-336.
- Saad A.Y., Melkonian S., 1992. The distribution and host range of *Pseudomonas syringae* ssp., *savastanoi* in Lebanon. *Conferencen on Olive diseases* (Sounion,GR, 1992) Abstr.
- Sabatè J., Laviña A., Battle A., 2003. Potencial vectors of grapevine Bois Noir phytoplasma in Spain and evaluation of their transmission capacity. *Extended Abstracts. 14th Meeting ICVG*, Sept. 12-17, 2003, Locorotondo, Bari (Italy), 113.
- Scarpa G.M., Milia M., Pinna M.E., Picci V., 1994. *Myrtus communis* L.: coltura in vitro finalizzata alla micropropagazione. *Convegno Internazionale "Coltivazione e miglioramento di piante officinali"*, Trento 2-3 giugno 1994.
- Scortichini M., 1986. Il mirto. *Rivista di frutticoltura*, 48(12):47-53.
- Tedeschi R., Bosco D., Alma A., 2002. Individuazione del periodo critico per la trasmissione di *Apple proliferation* da parte di *Cacopsilla melanoneura* (Foster). *Petria*, 12: 377-378.
- Tedeschi R., Bertignono L., Alma A., 2005. Ruolo della psillidofauna del Biancospino in relazione alla malattia degli scopazzi del melo. *Atti 3° Incontro Nazionale sulle Malattie da Fitoplasmi*, Milano, 22-24 giugno 2005, 29-31 .
- Tomasi F., Branz A., Forno F., Grando M.S., Forti D., Vindimian M.E., 2000. Psille in frutteti infetti da *Apple Proliferation* (AP): situazione in Trentino. *Petria* 10, 143-144.