



**Comunidade de Auchenorrhyncha (Hemíptera) em vinhas da Região  
Demarcada do Douro: análise de potenciais vetores de *Xylella fastidiosa***

**Célia Cristina Morais Gradíssimo**

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança  
para obtenção do Grau de Mestre em Agroecologia*

Orientado por

**José Alberto Cardoso Pereira**  
**Isabel Cristina de Sousa Rodrigues**

**Bragança**

**2021**



Este trabalho foi financiado pelo Projeto H2020-SFS-2016-3. RIA, contrato 727987 “XF-  
ACTORS Xylella fastidiosa Active Containment Through a multidisciplinary-Oriented  
Research Strategy e pelo FEDER no âmbito do Programa PT2020 para apoio financeiro ao  
CIMO (UIDB / 00690/2020).





*À minha mãe,  
a estrela mais brilhante do meu céu.*



## **Agradecimentos**

Ao meu orientador Prof. Dr. José Pereira, pela confiança, oportunidade de integrar o seu grupo de trabalho e pelo exemplo de profissionalismo e dedicação.

À minha co-orientadora Mestre Isabel Rodrigues, pela orientação, disponibilidade e auxílio imprescindível na realização deste trabalho.

Aos proprietários das vinhas por permitirem fazer as colheitas de insetos.

Aos colegas de trabalho e amigos, na DRAPN-DCTM, Eng.º Hélder Fernandes e Eng.º Miguel Pereira, pela ajuda, paciência, tolerância e carinho ao longo do Curso de Mestrado.

À antiga chefe de Divisão DCTM, Eng.ª Lurdes Mesquita, pela compreensão, incentivo e apoio.

À Diretora de Serviços de Desenvolvimento Agroalimentar e Licenciamento (DRAPN), Eng.ª Maria Manuel Mesquita, pela simpatia e disponibilização de informação.

À minha família, porque sempre acreditaram em mim, em especial ao meu Pai, pelo incentivo, pela infinita paciência e exemplo de determinação.

Aos amigos Miguel, Cristiana C., Cristiana P., Lurdes, Manuel, Paula e Evangelina pela amizade, pela união, companheirismo e alegria sempre presentes.

A todos os que contribuíram direta ou indiretamente na realização deste trabalho, o meu  
**MUITO OBRIGADA!**



## Resumo

A Região Demarcada do Douro, a primeira região vitícola demarcada e regulamentada no mundo, tem um potencial vitivinícola excepcional com forte impacto socioeconómico, paisagístico e cultural. A recente identificação em Portugal (2019) de plantas infetadas com a bactéria gram-negativa, *Xylella fastidiosa*, na região do Porto, suscita grande preocupação uma vez que a bactéria pode provocar doenças graves em diferentes espécies de interesse agrícola, como a doença de Pierce na videira. Esta bactéria fitopatogênica é transmitida exclusivamente por insetos da subordem Auchenorrhyncha que se alimentam de seiva xilémica. Dada a grande relevância da Região Demarcada do Douro e a sua proximidade ao foco de infeção, a avaliação da existência de potenciais vetores de *X. fastidiosa* é um aspeto da maior importância para a avaliação de potenciais riscos e delineamento de estratégias de prevenção da doença. Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi catalogar a abundância e diversidade de indivíduos da subordem Auchenorrhyncha em vinhas da Região Demarcada do Douro, dando especial foco aos potenciais vetores de *X. fastidiosa*. Para tal, em 2019, em três datas distintas (julho, setembro e outubro) procedeu-se a amostragem de indivíduos de Auchenorrhyncha, através da técnica de varredura, do coberto vegetal e da copa da videira em dez vinhas distribuídas na Região Demarcada do Douro. No total, foram capturados 3463 indivíduos da subordem Auchenorrhyncha, sendo que 3072 são da infraordem Cicadomorpha e 391 da infraordem Fulgoromorpha. Foram capturadas 76 espécies diferentes. A cigarrinha verde, *Empoasca vitis* (Göthe, 1875), foi a espécie mais abundante representando 31,45 % dos indivíduos capturados. Foram capturadas três espécies vetoras de *X. fastidiosa*, nomeadamente (*Philaenus spumarius* (Linnaeus, 1758), *Neophilaenus campestris* (Fallén, 1805) e *Cicadella viridis* (Linnaeus, 1758). *N. campestris*, com 38 indivíduos, foi o vetor mais abundante nas vinhas amostradas, representando 61% do total de indivíduos considerados vetores. A abundância de vetores encontra-se positivamente correlacionada com o coberto vegetal. Adicionalmente foram também capturados vetores ou potenciais vetores de fitoplasmas responsáveis por doenças prejudiciais à videira, como é o caso de *Scaphoideus titanus* Ball, 1932 considerado o principal vetor do fitoplasma da flavescência dourada.

**Palavras-chave:** Região Demarcada do Douro; doenças emergentes; doença de Pierce; vinha; Auchenorrhyncha; hospedeiro; vetor; *Philaenus spumarius*; *Neophilaenus campestris*.



## Abstract

The Douro Demarcated Region, the first demarcated and regulated wine region in the world, has an exceptional wine-growing potential with a strong socio-economic, landscape, and cultural impact. The recent identification in Portugal (2019) of plants infected with the gram-negative bacterium, *Xylella fastidiosa*, in the Porto region, raises great concern since the bacterium can cause serious diseases in different species of agricultural interest, such as Pierce's disease on the vine. This phytopathogenic bacterium is transmitted exclusively by insects of the suborder Auchenorrhyncha that feed on xylem sap. Given the great importance of the Douro Wine Region and its proximity to the focus of infection, the assessment of the existence of potential vectors of *X. fastidiosa* is an aspect of the greatest importance for the assessment of potential risks and the design of disease prevention strategies. Therefore, the objective of this work was to catalog the abundance and diversity of individuals of the suborder Auchenorrhyncha in the regions of the Demarcated Region of Douro, giving special focus to the potential vectors of *X. fastidiosa*. To this end, in 2019, on three different dates (July, September, and October) individuals of Auchenorrhyncha were sampled, using the sweeping technique, the ground vegetation cover and the vine canopy in ten vineyards distributed in the Douro Demarcated Region. In total, 3463 individuals of the suborder Auchenorrhyncha were captured. 529 are from the Cicadomorpha infraorder and 13 from the Fulgoromorpha infraorder. 76 different species were captured. The leafhopper, *Empoasca vitis* (Göthe, 1875), was the most abundant species, representing 31.45% of the individuals captured. Only three vectors of *X. fastidiosa* were captured, namely *Philaenus spumarius* (Linnaeus, 1758), *Neophilaenus campestris* (Fallén, 1805) and, *Cicadella viridis* (Linnaeus, 1758). *N. campestris*, with 38 individuals, was the most abundant vector in the sampled vineyards, representing 61% of the total number of vectors. All captured vectors showed a positive correlation with vegetation cover. Additionally, vectors or potential vectors of phytoplasmas responsible for other diseases in the vines were also captured, like *Scaphoideus titanus* Ball, 1932 the main vector of the phytoplasma of the Flavescence dorée.

**Keywords:** Douro Demarcated Region; emerging diseases; Pierce's disease; vine, Auchenorrhyncha; host; vectors; *Philaenus spumarius*; *Neophilaenus campestris*.



# Índice Geral

<b>Resumo .....</b>	<b>ix</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>xi</b>
<b>Índice de Figuras .....</b>	<b>xv</b>
<b>Índice de Quadros.....</b>	<b>xvii</b>
<b>Capítulo 1 Introdução geral e objetivos .....</b>	<b>1</b>
<b>Capítulo 2 Revisão bibliográfica .....</b>	<b>5</b>
2.1. Enquadramento histórico da vinha em Portugal .....	6
2.2. Região Demarcada do Douro .....	7
2.2.1 Localização.....	7
2.2.2 Caracterização .....	8
2.3. Auchenorrhyncha: Papel desempenhado como pragas e como vetores de doenças na vinha .....	10
2.4. <i>Xylella fastidiosa</i> .....	14
2.4.1. Taxonomia, plantas hospedeiras, transmissão e sintomas.....	14
2.4.2. Distribuição .....	15
2.4.3. Potenciais Vetores .....	17
2.5. Doença de Pierce.....	21
2.6. Medidas de controlo de <i>X. fastidiosa</i> e seus vetores.....	24
<b>Capítulo 3 Material e métodos .....</b>	<b>27</b>
3.1. Caracterização da área em estudo .....	28
3.3. Amostragem das vinhas .....	31
3.4. Triagem e identificação dos indivíduos da Subordem Auchenorrhyncha .....	32
3.5. Análise de dados .....	33
3.5.1. Estrutura da comunidade de Auchenorrhyncha .....	33
3.5.2. Diferenças entre as comunidades de Auchenorrhyncha.....	34
3.5.3. Esforço de amostragem .....	35
<b>Capítulo 4 Resultados.....</b>	<b>37</b>
4.1. Estrutura da comunidade de Auchenorrhyncha .....	38
4.2. Diferenças entre as comunidades de Auchenorrhyncha.....	44
4.3. Esforço de amostragem .....	48
<b>Capítulo 5 Discussão.....</b>	<b>49</b>

5.1. Potenciais vetores de <i>X. fastidiosa</i> .....	50
5.2. Remanescente comunidade de Auchenorrhyncha.....	54
<b>Capítulo 6 Conclusão e perspectivas futuras .....</b>	<b>57</b>
<b>Bibliografia.....</b>	<b>59</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>73</b>

## Índice de Figuras

Figura 1. Região Demarcada do Douro e sub-regiões.....	7
Figura 2. Valores médios anuais, simulados para o período 1971-2000.....	9
Figura 3. (A) Cigarrinha verde; (B) sintoma típico do ataque de cigarrinha verde, numa casta tinta.....	11
Figura 4. (A) Vetor da flavescência dourada <i>Scaphoideus titanus</i> Ball, 1932; (B) sintoma típico da flavescência dourada .....	12
Figura 5. (A) Vetor da Bois Noir, <i>Hyalesthes obsoletus</i> Signoret, 1865; (B) sintomas típicos da “Bois Noir” .....	13
Figura 6. (A) Vetor de <i>Xylella fastidiosa</i> , <i>Philaenus. spumarius</i> ; (B) sintomas típicos da Doença de Pierce .....	13
Figura 7. Diferentes fases do ciclo de vida de <i>Philaenus spumarius</i> (A), (C) e (D). (A) ovos unidos por secreção; (B) espuma mucilaginosa; (C) ninfa; (D) estado adulto.....	19
Figura 8. Cigarra adulta .....	20
Figura 9. Diferentes fases do ciclo de vida de <i>Cicadella viridis</i> (A) ovos; (B) ninfa (C) estado adulto.....	21
Figura 10. Sintomas da doença de Pierce (A) casta branca: margens da folha ligeiramente amareladas; (B) a folha pode tornar-se necrótica subitamente, sem clorose significativa com parte do limbo verde; (C) casta tinta com (des)coloração vermelha; (D) casta branca: a clorose e a necrose aparece apenas numa secção da folha; (E) desfolhamento da videira com pecíolos presos na vara; (F) “ilhas verdes”, nas varas da videira e cacho seco. Fonte: Varela et al., 2001. ....	23
Figura 11. Pontos de amostragem na Região Demarcada do Douro. Mapa projetado em ETRS89/PT-TM06. ....	28
Figura 12. Técnicas de varredura efetuada com recurso a redes entomológicas nos dois estratos: (A); copa da videira e (B) coberto vegetal da entrelinha. ....	32
Figura 13. Vetores de <i>Xylella fastidiosa</i> . (A) <i>Philaenus spumarius</i> ; (B) <i>Neophilaenus campestris</i> ; (C) <i>Cicadella viridis</i> . (1) Vista dorsal; (2) vista frontal; (3) genitália masculina (ede= edeago; sty=style). ....	43
Figura 14. Distribuição da abundância média dos adultos de Auchenorrhyncha nos meses de julho, setembro e outubro de 2019 na copa da videira e no coberto vegetal nas	

diferentes vinhas amostradas na Região Demarcada do Douro. Mapas projetados em ETRS89/PT-TM06 .....	45
Figura 15. Análise de escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) para a abundância de Auchenorrhyncha no (A) estrato (copa e coberto vegetal), nas (B) datas amostradas (junho, setembro e outubro) e (C) interação entre os estratos e as datas amostradas.....	47
Figura 16. Curvas de acumulação de espécies com base na quantidade de vinhas amostradas para a (A) copa das videiras, e para o (B) e no coberto vegetal em julho, setembro e outubro. Os envelopes correspondem ao intervalo de confiança 95%.....	48
Figura 17 Mapa fatorial de co-inércia. Os quadrados pretos representam relacionamentos positivos e os quadrados brancos relacionamentos negativos. Os tamanhos quadrados são proporcionais à magnitude da correlação.....	53

## Índice de Quadros

Quadro 1. Caracterização das vinhas amostradas quanto à localização, altitude, castas, sistematização do terreno, compasso de plantação, tipo de poda, área e modo de produção (MPB-Agricultura Biológica, MPI- Proteção Integrada .....	29
Quadro 2. Operações culturais e produtos fitofarmacêuticos utilizados, nas vinhas amostradas .....	30
Quadro 3. Número total (N) e frequência (F) de adultos de Auchenorrhyncha recolhidos em junho, setembro e outubro de 2019 na copa da videira e coberto vegetal, em vinhas da Região Demarcada do Douro, vetores e potenciais vetores de <i>Xylella fastidiosa</i> . .....	40
Quadro 4. Índices de diversidade de Auchenorrhyncha, para cada data e estrato amostrado. Riqueza média amostrada, Índice de Diversidade Shannon Wiener ( $H'$ ), Índice de Equitabilidade de Pielou ( $J'$ ). Letras iguais não são significativamente diferentes para $P < 0,05$ (teste de Tukey).....	44
Quadro 5. Diferenças entre as comunidades de Auchenorrhyncha por estrato e datas de amostragem de acordo com a análise PERMANOVA das espécies de Auchenorrhyncha. df - graus de liberdade; SS - soma dos quadrados .....	47





# Capítulo 1.

Introdução geral e objetivos

## 1. Introdução geral e objetivos

Desde há milhares de anos que a vinha e o vinho ocupam um lugar muito especial na história da humanidade, influenciando a vida dos povos, em todo o mundo (Prance & Nesbitt, 2005; Jacobson, 2006). O consumo do vinho afirmou-se como elemento de sociabilização/convívio e de comunicação entre os homens e o cultivo de vinhas expandiu-se para as mais variadas zonas do mundo (Charters, 2006). Em Portugal, a vitivinicultura é uma atividade de grande importância socioeconómica e cultural, com uma vasta tradição, destacando-se como uma das principais alavancas de desenvolvimento e estabilidade económica em muitas regiões do país (Agro.Ges, 2012). Portugal, em 2019, era o 11º maior produtor mundial de vinho, com uma produção média anual de 6,5 milhões hL, e com uma área cultivada de 192 mil ha (IVV, IP, 2021b). Na Região Demarcada do Douro, a mais importante a nível nacional, são produzidos 26 % dos vinhos nacionais e 46 % dos vinhos com denominação de origem (IVV, IP, 2021b).

A vinha, assim como outras culturas, está sujeita a pragas e doenças que ameaçam a produção, a qualidade e a tipicidade dos vinhos, têm-se destacado pragas como a filoxera, que atingiu proporções catastróficas no século XIX, dizimando as vinhas da Região Demarcada do Douro, ou as doenças como o míldio e oídio, que também resultaram em prejuízos avultados para o país (Magalhães, 2015). Na atualidade, a vinha sofre uma nova ameaça com a bactéria fitopatogênica *Xylella fastidiosa*, fazendo recordar o passado ensombrado da cultura em Portugal.

Na Europa, *X. fastidiosa* foi registada pela primeira vez em 2013 na região italiana da Apúlia (Saponari et al., 2013), onde é atualmente responsável pela morte de milhões de oliveiras (Saponari et al., 2019). Desde a primeira deteção, a bactéria foi posteriormente registada em outros países europeus, como a França, ou a Espanha e detetada em diferentes hospedeiros. Em Portugal, o primeiro caso oficialmente confirmado ocorreu em janeiro de 2019, em Vila Nova de Gaia, em plantas de alfazema (*Lavandula dentata* Linnaeus) (DGAV, 2021). A rápida disseminação desta bactéria para outros países é essencialmente devido ao transporte de material vegetal contaminado. Quando a bactéria é introduzida numa nova localização é disseminada rapidamente por insetos vetores nativos (Redak et al., 2004). São considerados potenciais vetores todos os insetos que se alimentam de seiva xilémica (Almeida et al., 2005). Estes insetos pertencem à subordem Auchenorrhyncha, sendo que a família Cicadellidae (subfamília Cicadellinae) e a superfamília Cercopoidea

(famílias Aphrophoridae, Cercopidae e Clastropteridae) representam os principais grupos de vetores (Novotny & Wilson, 1997; Almeida et al., 2005; Sicard, et al., 2018; Krugner et al., 2019). Na Europa, três espécies da família Aphrophoridae foram confirmadas como vetores eficientes desta bactéria, *Philaenus spumarius* (L., 1758), *Philaenus italosignus* Drosopoulos & Remane (2000) e *Neophilaenus campestris* (Fallén, 1805) (Cavaliere et al., 2019). *Philaenus spumarius* é a espécie especialista em xilema mais abundante e dispersa na Europa (Rodrigues et al., 2014) e foi identificado como o principal vetor de *X. fastidiosa* nos olivais do sul da Itália (Saponari, et al., 2014).

Os vetores de *X. fastidiosa* passam grande parte de seu ciclo de vida no coberto vegetal (Mazzoni, 2005; Dongiovanni et al., 2018; Morente et al., 2018). Porém com a morte do coberto vegetal no início do verão deslocam-se para hospedeiros lenhosos e espécies de plantas perenes ou de folha caduca (Lopes et al., 2014; Morente et al., 2018; Antonatos et al., 2020). No outono, após as primeiras chuvas, os potenciais vetores retornam para o coberto vegetal onde efetuam as posturas que dará origem a uma nova geração (Cruaud et al., 2018; Morente et al., 2018). Apesar dos vetores passarem grande parte do tempo no coberto vegetal do solo, foi proposto que eles podem desempenhar um papel importante na transmissão de *X. fastidiosa* quando se deslocam das gramíneas no final da primavera para se alimentar dos hospedeiros lenhosos (Almeida, 2016; Morente et al., 2018). No processo de seleção do hospedeiro durante o verão, eles podem transmitir a bactéria às plantações lenhosas como a videira, amendoeira e oliveira (Purcell, 1980). O processo de transmissão de *X. fastidiosa* pode ocorrer em poucos minutos (Almeida et al., 2005). A bactéria não necessita de um período de latência e uma vez adquirida pelos vetores em fase adulta, esta permanece no aparelho bucal até ao final do ciclo de vida (Janse & Obradovic, 2010).

*Xylella fastidiosa*, é responsável por várias doenças em culturas de importância económica, na vinha esta bactéria é o agente causal da doença de Pierce (Janse & Obradovic, 2010). As videiras afetadas pela doença tornam-se improdutivas, apresentam uma diminuição gradual do vigor, levando a posterior morte da planta (Thorne et al., 2006). A doença de Pierce surgiu como um problema sério na Califórnia no início dos anos 1990, atualmente, nesta região, é responsável por perdas económicas no setor vitivinícola que rondam os 92 milhões de Euros (Tumber et al., 2014). A doença de Pierce representa uma grande ameaça para o setor vitivinícola, uma vez que não se conhece um método eficiente de cura para a doença. Acredita-se que o controlo dos vetores seja a principal ação de proteção capaz de limitar a propagação de *X. fastidiosa* (Schneider et al., 2020). Para

estabelecer medidas de proteção é necessário obter conhecimento da diversidade e abundância dos potenciais vetores desta bactéria nos agrossistemas. Em Portugal, o conhecimento sobre a biodiversidade da subordem Auchenorrhyncha assim como o seu ciclo de vida é ainda incipiente. Grande parte dos estudos em progresso são apenas focados em olival (Antonatos et al., 2020; Panzavolta et al., 2019; Elbeaino et al., 2014; Morente et al., 2018; Tsagkarakis et al., 2018). Por tal, o presente trabalho teve como objetivo geral, catalogar a abundância e diversidade de indivíduos da subordem Auchenorrhyncha em vinhas da Região Demarcada do Douro, dando especial foco aos potenciais vetores de *X. fastidiosa*. O objetivo geral será alcançado através do cumprimento dos seguintes objetivos específicos:

- i. Descrever a comunidade de espécies presentes nas vinhas da Região Demarcada do Douro, em diferentes estratos, na copa da videira e no coberto vegetal das entrelinhas em diferentes datas de amostragem (julho, setembro e outubro);
- ii. Analisar a diversidade e abundância de potenciais vetores *X. fastidiosa*;
- iii. Analisar as diferenças entre as comunidades de Auchenorrhyncha nos diferentes estratos e datas;
- iv. Analisar a correlação das espécies de Auchenorrhyncha com o estrato que ocupam.



# Capítulo 2.

Revisão bibliográfica

## **2.Revisão bibliográfica**

### **2.1. Enquadramento histórico da vinha em Portugal**

A cultura da videira e a produção do vinho foram introduzidas em Portugal, há cerca de 2000 anos a.C. pelos Tartéssios e manteve-se durante as sucessivas ocupações dos diferentes povos na Península Ibérica, incluindo o território português, nomeadamente com os Fenícios, os Cartagineses, os Iberos e os Celtas (Magalhães, 2015). Contudo, foi com a ocupação dos Romanos, em 15 a.C., que o cultivo da vinha teve um desenvolvimento considerável. A introdução de novas variedades e o aperfeiçoamento de técnicas de poda (IVV, IP, 2021a), a forma de plantar e o armazenamento, contribuíram para a modernização da cultura (Leitão, 2015). Por volta do ano de 585 d.C. seguiram-se as invasões bárbaras (Suevos e Visigodos) e apesar destes adotarem o consumo de vinho, considerando-o até, como a bebida digna dos povos “civilizados”, não introduziram inovações no cultivo da videira (IVV, IP, 2021a).

No século VII, com a invasão dos Árabes, foi possível continuar a consumir vinho e manter a cultura da vinha, apesar das proibições da religião islâmica, mantendo apenas, entraves à comercialização externa de vinho (Magalhães, 2015). Já no século XII, com domínio cristão e impulsionada pelas Ordens religiosas, a cultura do vinho assumiu um papel fundamental na sociedade, nos costumes, nas festas, nos ofícios religiosos e na economia do país (Leitão, 2015).

A partir do século XIV iniciou-se o comércio externo de vinhos e com o contributo das Descobertas Portuguesas foi possível uma maior disseminação do mesmo e da viticultura. Quando em 1703 é celebrado o Tratado de Methuen entre Portugal e Inglaterra, regulamentando o comércio dos têxteis em troca de vinho, entre os dois países, este tem um aumento exponencial, principalmente na exportação de Vinho do Porto (Silva, 1996). As grandes trocas comerciais, levam também à chegada de agentes de doenças e pragas a Portugal, marcando desta forma o século XIX, pelos problemas fitossanitários causados na vinha. Doenças como o oídio, o míldio, o black rot ou a filoxera, causaram prejuízos catastróficos no país, mas também proporcionaram a adaptação da viticultura e à adoção de novas técnicas de plantação, condução e sistematização da vinha, refletindo-se na produtividade e qualidade dos vinhos produzidos (Magalhães, 2015).

A partir dos meados do século XX e com a entrada de Portugal para a União Europeia, em 1986, os vários apoios da Política Agrícola Comum (PAC), contribuíram para

a modernização e expansão da viticultura nacional. Os efeitos positivos foram notórios, porém a intensificação do uso de produtos fitofarmacêuticos, fertilizantes de síntese, juntamente com as alterações provocadas na paisagem agrícola, causaram um desequilíbrio no meio ambiente e na biodiversidade (Magalhães, 2015).

## 2.2. Região Demarcada do Douro

### 2.2.1 Localização

A Região Demarcada do Douro (RDD) foi a primeira região vitícola demarcada e regulamentada no mundo (Pereira, 1996). Esta dispõe de uma superfície territorial de 250 000 hectares, que se localiza numa posição geoestratégica e privilegiada no nordeste de Portugal (IVDP, 2021d). Situada na bacia hidrográfica do Douro, mais especificamente entre a povoação de Barqueiros (Mesão Frio) e Barca de Alva (Figueira de Castelo Rodrigo), abrange diversas freguesias, que pertencem a 21 concelhos dos distritos de Bragança, Guarda, Vila Real e Viseu (Decreto-lei n.º 7934/1921 de 10 de dezembro).



Figura 1. Região Demarcada do Douro e sub-regiões; Fonte: IVDP 2021c - adaptado.

A RDD encontra-se delimitada e dividida em três sub-regiões (Figura 1), conforme o Decreto n.º 7934, de 10 de dezembro de 1921. O Baixo Corgo, que se localiza na parte mais ocidental da RDD, de Barqueiros (Mesão Frio) até ao rio Corgo (Peso da Régua); seguindo-se o Cima Corgo até ao Cachão da Valeira, onde ocupa a zona central e por último, na zona mais oriental, o Douro Superior que vai até Barca d'Alva, fazendo fronteira com Espanha (Frutuoso, 2018). As sub-regiões têm características distintas, condicionadas não só por fatores físicos e naturais como também sócio-económicos (Leitão, 2015). Da área da RDD, 43 708 ha estão dedicados à cultura de vinha, correspondendo a 17% da área total, (IVDP, 2021d), estando também presentes outras culturas como oliveira, amendoeira e citrinos, mas com menor expressão. A sub-região do Baixo Corgo é a que tem maior percentagem de área ocupada com vinha (32,2%) sendo também, a que assumiu maior importância na delimitação da região (Pereira, 1996); segue-se o Cima Corgo com 22% e por fim o Douro Superior com 9,3%. A sub-região do Douro Superior é a que tem maior área territorial, com 110.000 ha, sendo, no entanto, a que apresenta menor área vitícola (10 197 ha). Por ser a região mais afastada dos grandes centros de negócio, no litoral e apesar do relevo ser menos acidentado, o que facilita as operações culturais, foi a última área para onde se expandiu a plantação de vinha (Leitão, 2015; Magalhães, 2015).

### **2.2.2 Caracterização**

A paisagem da RDD é caracterizada por encostas de declive moderado a escarpado e exposições variadas ao longo do rio Douro e seus afluentes, a altitude, varia entre  $\approx 40$  m e os  $\approx 1400$  m, sendo a altitude média de  $\approx 443$  m (Jones, 2013).

O solo na região duriense é essencialmente composto por xisto com algumas inclusões de natureza granítica (Frutuoso, 2018) e distribui-se por dois grupos fundamentais: os solos que se formaram pela marcada ação do 'Homem', designados de antropossolos ( $\approx 30\%$  da área), e solos menos intervencionados, presentes na região, como os leptossolos, cambissolos, fluvisolos e regossolos (Figueiredo, 2015; IVDP, 2021d).

A RDD possui características climáticas muito próprias que se devem à sua localização, sendo grande a influência que as serras do Marão e Montemuro exercem, funcionando como uma barreira natural aos ventos atlânticos (Leitão, 2015). Assim a região mantém um clima tipicamente mediterrânico, temperado e chuvoso no Inverno, mas quente e seco no verão (IVDP, 2021d). As temperaturas médias anuais mais elevadas ocorrem nos meses de junho a setembro e as temperaturas mais baixas ocorrem nos meses de dezembro

a fevereiro. Relativamente à precipitação média anual, verifica-se maior ocorrência nos meses de novembro, dezembro e janeiro e muito escassa para os meses de junho, a setembro (Figura 2).

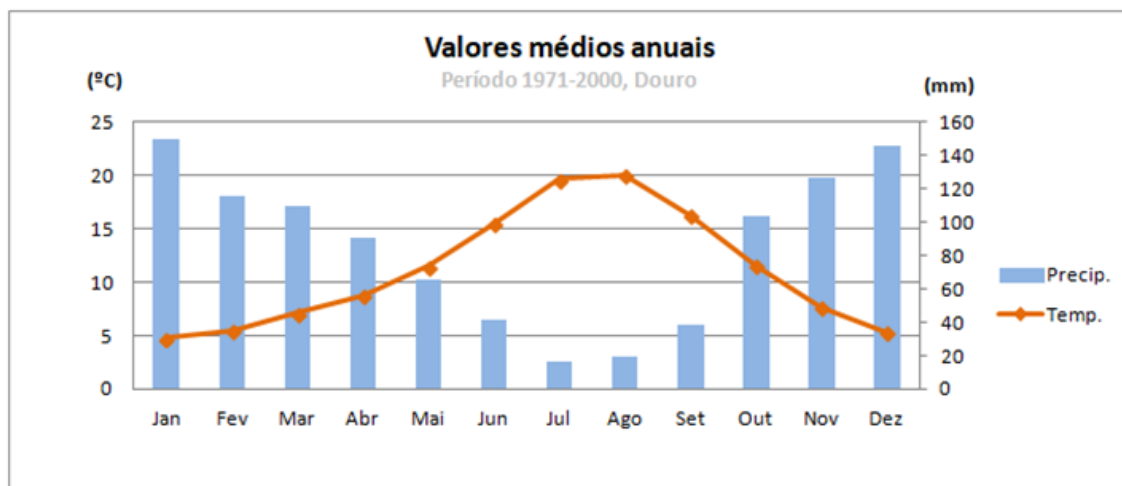


Figura 2. Valores médios anuais, simulados para o período 1971-2000, Douro; Fonte: Portal do clima, 2021

A Região Demarcada do Douro assume uma grande importância agrícola e económica para o país, destacando-se na balança comercial. Segundo os dados disponíveis da Região Duriense, para 2019, a produção total de vinho, ultrapassou os 169 milhões de litros, representando 26% da produção nacional (IVV, IP, 2021b). Com exportações para mais de 125 países, representou um volume de vinho exportado de 74,3 milhões de litros e um valor de vendas superior a 367,5 milhões de euros. A França liderou o destino de exportação representando 25,3% do total, seguindo-se a Holanda com 12,8% e o Reino Unido com 12,4%, só os três países representam metade das exportações, os restantes países de destino apresentam 49,6% das exportações (IVDP, 2021a). A importância da região, não é só a nível económico, mas também a nível social e humano. A cultura da vinha, no Douro, é muito exigente em mão de obra, associada às características do terreno, e a pequena dimensão da maioria das explorações, normalmente com pouca mecanização, tem um forte contributo tanto na inclusão social e geração de emprego através dos diversos agentes económicos, como na ocupação e manutenção do meio rural, por isso também, de elevada importância estratégica para o país (Pereira, 1996; Simões, 2003; Agro.Ges, 2012).

A região duriense caracteriza-se por uma paisagem rural, onde existem cerca de 20000 explorações, das quais, 61% não ultrapassam 1 ha. São propriedades de pequena

dimensão (minifúndio), com elevado número de parcelas de vinha cadastradas (39365), em que os trabalhos agrícolas são realizados, maioritariamente, pelo agregado familiar. Com 35% situam-se as explorações com área entre 1 e 10 ha, e com 4% as que têm mais de 10 ha, e por sua vez as que tem menor número de parcelas de vinha cadastradas (12748). Estas são pertencentes a particulares, por vezes produtores-engarrafadores, ou a empresas de Vinho do Porto, e cujo número não ultrapassa as 740 explorações (Varela, 2008; Magalhães, 2015; IVDP, 2021a). Relativamente ao número de agentes económicos com inscrições ativas, em março de 2019, ascendia a 3600 (IVV, IP, 2021c). A Região Demarcada do Douro além de ter um vinho distinto e mundialmente reconhecido, o Vinho do Porto, com uma produção de cerca de 45%, também produz, os vinhos com denominação Douro (48%), e os vinhos com IG Duriense, Moscatel e Vinho, mas em menor quantidade (7%) (IVDP, 2021a).

A riqueza da Região Demarcada do Douro, não se esgota nos importantes fatores socioeconómicos. Para além das sub-regiões, inclui o Alto Douro Vinhateiro que compreende cerca de 10% da área e foi classificado em 2001, pela UNESCO, como Património Mundial da Humanidade, na categoria de “paisagem cultural evolutiva e viva” (Figueiredo, 2015; Frutuoso, 2018).

### **2.3. Auchenorrhyncha: Papel desempenhado como pragas e como vetores de doenças na vinha**

A videira, como qualquer outra planta, é suscetível a pragas e doenças que podem provocar perdas significativas na produção e na qualidade e em casos mais severos podem levar à morte da planta (Amaro, 2004). Os inimigos da videira são representados por uma ampla gama de organismos, incluindo insetos, fungos, bactérias e vírus (Creasy & Creasy, 2009). Dentro desta vasta gama de organismos, na última década, a subordem Auchenorrhyncha (Hemiptera), tem despertado a atenção da comunidade científica, uma vez que os indivíduos desta subordem são responsáveis por um crescente impacto negativo na economia agrícola. Estes podem causar diversos danos nas videiras, sendo eles diretos (pela destruição dos tecidos vegetais através da alimentação ou oviposição) (Heinrichs & Barrion, 2004; Backus, 2005; Atakan, 2009; Cryan & Svenson, 2010) ou indiretos (pela transmissão de fitopatógenos) (Nielson, 1968; Redak et al., 2004).

Todos os indivíduos da subordem Auchenorrhyncha são fitófagos e quando atingem densidades populacionais elevadas, adquirem a designação de pragas (Biedermann &

Niedringhaus 2009). Ao alimentarem-se quer do floema, xilema ou mesófilo, este vasto grupo de insetos causam distúrbios severos às plantas (Biedermann & Niedringhaus, 2009). Em Portugal, as cigarrinhas verdes (Figura 3A) *Jacobiasca lybica* (Bergevim & Zanon, 1922) e *Empoasca vitis* (Göeth, 1875) constituem uma das principais pragas na vinha, cuja expansão se vem registando nos últimos vinte anos (Félix & Cavaco, 2009; Magalhães, 2015). Quando o ataque destas cigarrinhas é intenso, numa fase inicial, as videiras apresentam folhas com margens avermelhadas ou amareladas, evoluindo posteriormente para desfoliações precoces das cepas (Figura 3B). Esta redução da área foliar leva a uma consequente redução da atividade fotossintética, afetando assim de uma forma significativa a maturação das uvas o que leva por sua vez à diminuição do grau alcoólico provável e alterações na cor dos mostos. Em situações de ataques graves poderá conduzir a dificuldades no abrolhamento das videiras e ao seu progressivo enfraquecimento (Mosna, 2005).

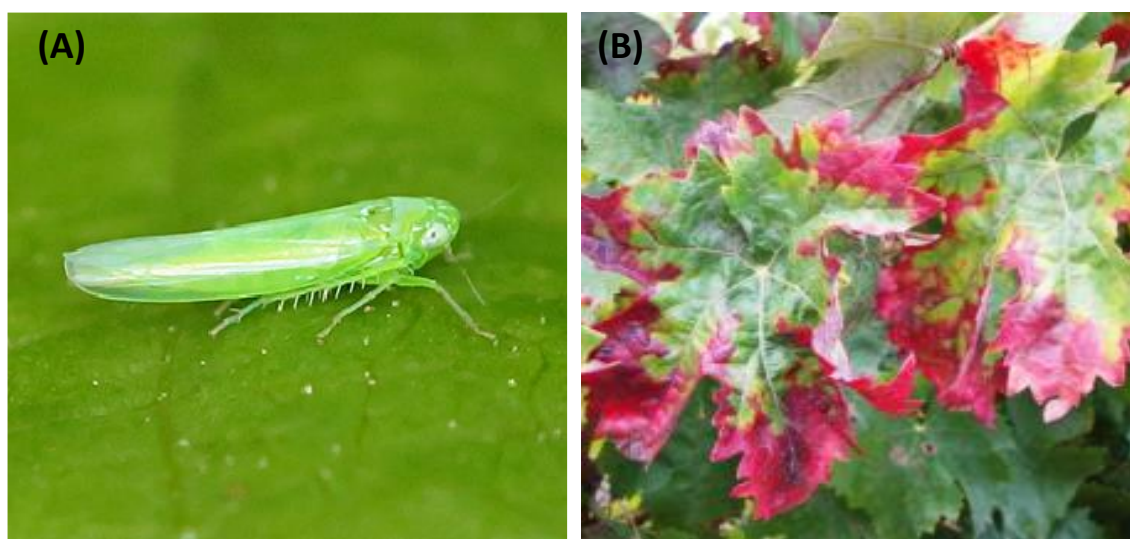


Figura 3. (A) Cigarrinha verde; (B) sintoma típico do ataque de cigarrinha verde, numa casta tinta. Fonte: DGAV.

Na vinha, os principais fitopatogénicos transmitidos exclusivamente por indivíduos da subordem Auchenorrhyncha são: os fitoplasmas *Candidatus phytoplasma vitis* (Chuche & Thiéry, 2014) e *Candidatus phytoplasma solani* (Quaglino et al., 2016) e a bactéria *X. fastidiosa* (Almeida et al., 2005).

O fitoplasma *Candidatus phytoplasma vitis* é o agente casual da flavescência dourada da videira e é transmitido exclusivamente de forma epidémica na vinha pelo cicadelídeo *Scaphoideus titanus* Ball, 1932 (Figura 4A) (Chuche & Thiéry, 2014). A

flavescência dourada foi identificada pela primeira vez no sul de França nos anos 50 (Caudwell, 1981) e é atualmente considerada uma das doenças mais devastadora na viticultura europeia (Dermastia et al., 2017; Oliveira et al., 2020). Em Portugal a doença foi detetada pela primeira vez em 2006 na região vinícola dos vinhos verdes (De Sousa et al., 2010). As plantas infetadas com o fitoplasma da flavescência dourada apresentam folhas enrugadas com manchas amarelas ou vermelhas (sintoma dependente da variedade da videira) (Figura 4B), crescimento atrofiado e cachos murchos (De Sousa et al., 2003). Em Portugal, um dos primeiros sintomas de infeção de flavescência dourada é um atraso ou inexistência de abertura apical e lateral dos botões que normalmente ocorre no início do verão (De Sousa et al., 2010).

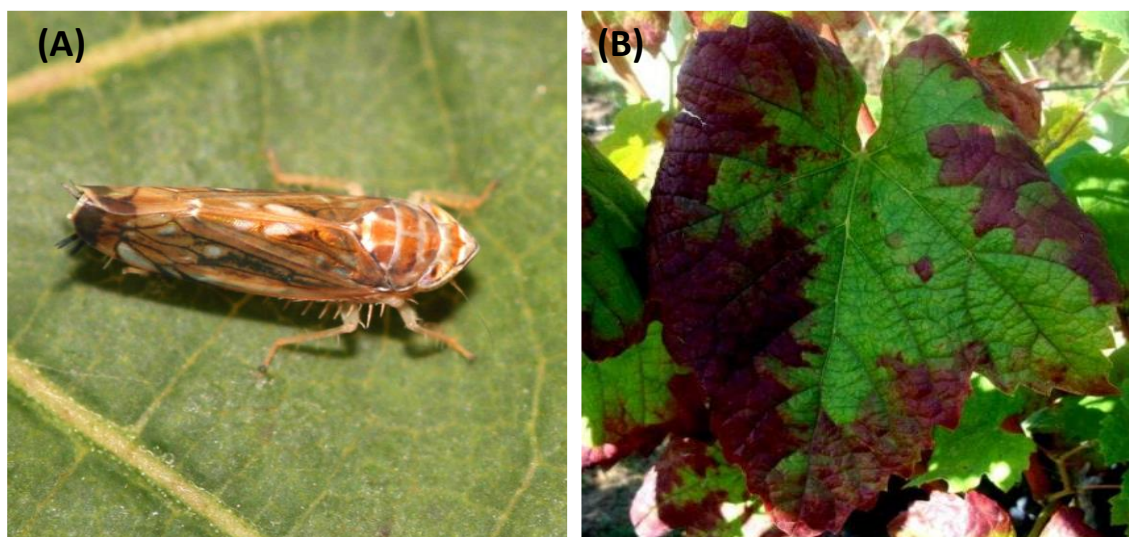


Figura 4. (A) Vetor da flavescência dourada *Scaphoideus titanus* Ball, 1932; (B) sintoma típico da flavescência dourada. Fonte: DGAV.

O fitoplasma *Candidatus phytoplasma solani*, é responsável pela doença “Bois Noir” ou madeira negra na videira. Este fitoplasma é transmitido à videira por indivíduos da família Cixiidae (Hemiptera: Auchenorrhyncha), que se alimentam ocasionalmente da videira, sendo que *Hyalesthes obsoletus* Signoret, 1865, é considerado o principal vetor (Figura 5A) (Maixner et al., 1995; Maixner, 2011). Bois noir, é a doença fitoplasmática mais frequente na Europa, na Bacia do Mediterrâneo e no Oriente Médio (Johannesen et al., 2012; Aryan et al., 2014; Cvrković et al, 2014). Esta doença é responsável pelo amarelecimento das folhas e pelo enfraquecimento das cepas quando as videiras infetadas são expostas às geadas os troncos e os ramos escurecem, sintoma que dá nome à doença (Figura 5B) (Aryan et al., 2014).

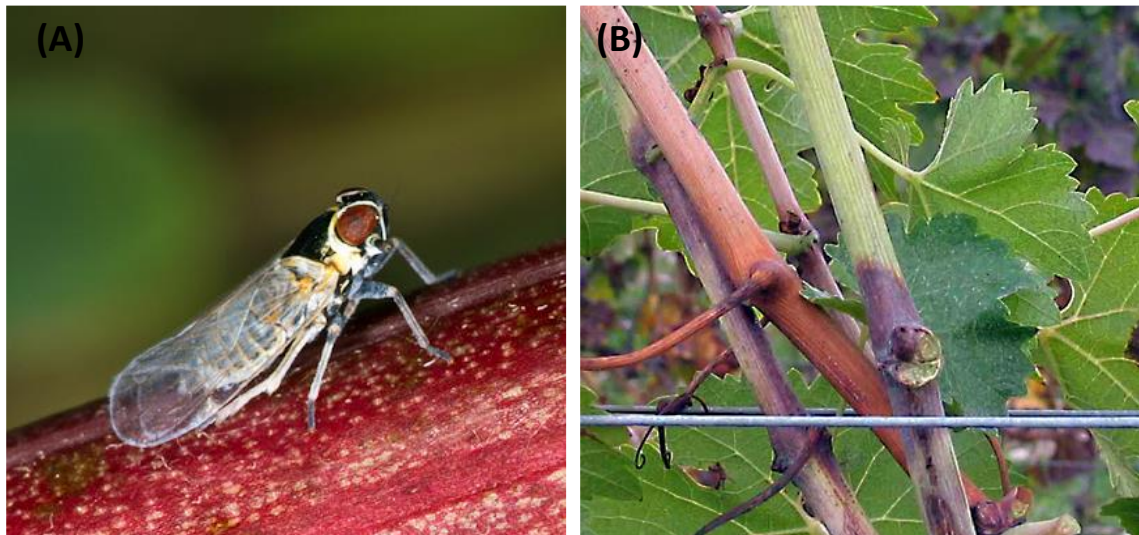


Figura 5. (A) Vetor da Bois Noir, *Hyaletthes obsoletus* Signoret, 1865; (B) sintomas típicos da “Bois Noir”. Fonte: plantdiseases.org.

A bactéria gram-negativa *X. fastidiosa*, é o agente causal da doença de Pierce na vinha (Janse & Obradovic, 2010). Todos os insetos que se alimentam de xilema são considerados potenciais vetores desta bactéria fitopatogénica (Figura 6A) (Almeida et al., 2005). Videiras infetadas com *X. fastidiosa* normalmente apresentam murchidão das folhas, com distribuição irregular e dieback, “ilhas” verdes de tecido saudável e as folhas separam-se facilmente do pecíolo (Figura 6B) (Thorne et al., 2006). Uma vez que os vetores desta bactéria são o principal foco deste trabalho, esta bactéria assim como a doença de Pierce e os seus vetores, serão descritos com mais detalhe nas secções seguintes.

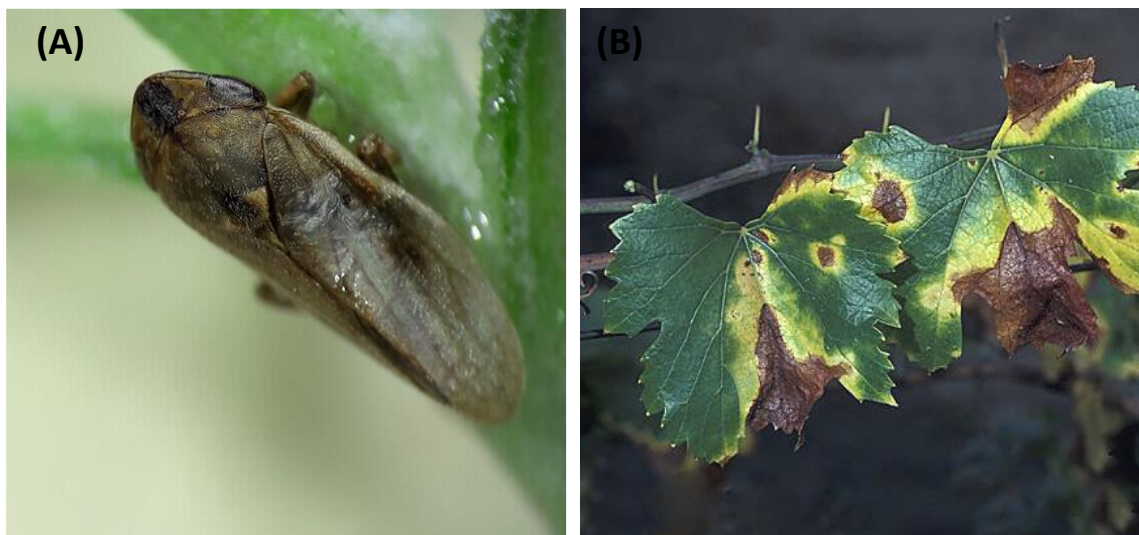


Figura 6. (A) Vetor de *Xylella fastidiosa*, *Philaenus spumarius*; (B) sintomas típicos da Doença de Pierce. Fonte: (A) Isabel Rodrigues; (B) plantdiseases.org.

## 2.4. *Xylella fastidiosa*

### 2.4.1. Taxonomia, plantas hospedeiras, transmissão e sintomas

*Xylella fastidiosa*, é uma bactéria gram-negativa, limitada ao xilema, que foi descrita pela primeira vez por Wells et al. em 1987. Atualmente, esta bactéria é um dos mais importantes fitopatógenos transmitidos por insetos, descritos na Europa, (Retchless et al., 2014). Taxonomicamente *X. fastidiosa* pertence à classe das Gammaproteobactérias, ordem Xanthomonadales e família Xanthomonadaceae (EPPO, 2019) O género *Xylella* contém duas espécies, a *X. fastidiosa* e a *X. taiwanensis* e estas incluem várias subespécies (EPPO, 2019). Conforme descrito por EFSA PHL (2018), existem 6 subespécies da bactéria *X. fastidiosa*: (i) subsp. *fastidiosa* (isolada da videira, amendoeira e alfafa, entre outros hospedeiros), (ii) subsp. *pauca* (isolada do cafeeiro, laranjeira e oliveira, entre outros), (iii) subsp. *multiplex* (inclui vários hospedeiros como o *Prunus* spp., *Quercus* spp., *Ulmus* spp. e *Rubus* spp.), (iv) subsp. *sandyi* (*Nerium oleander*), (v) subsp. *tashke* (*Chitalpa tashkentensis*, espécie ornamental) e (vi) subsp. *morus* (amoreira) (Hafi et al., 2017; Landa et al., 2017).

*Xylella fastidiosa* afeta várias espécies de plantas, na lista de espécies hospedeiras da EFSA (2021), constam 276 géneros e 597 espécies, nas quais se incluem, plantas espontâneas, de cultivo, ornamentais e florestais. As plantas hospedeiras mais representativas pertencem às famílias Fabaceae, seguindo-se a Asteraceae, Vitaceae, Poaceae e a Rosaceae. Este patógeno é responsável por várias doenças em culturas de importância económica como a doença de Pierce, clorose variegada dos citrinos, síndrome do declínio rápido da oliveira, *almond leaf scorch disease*, entre outras (Hopkins & Purcell, 2002; Agrios, 2005; EPPO, 2019). Apesar da ampla gama de hospedeiros de *X. fastidiosa*, é importante salientar que nem todas as espécies de plantas expressam sintomas e são suscetíveis a doenças. Muitas espécies de plantas podem ser infetadas e permanecer assintomáticas (Jackson, 2008; EFSA, 2021).

Relativamente à transmissão da bactéria, basta existir uma planta infetada com *X. fastidiosa*, para que a doença se estabeleça e se dissemine por meio de insetos vetores entre as plantas. A bactéria coloniza dois habitats distintos, ou seja, o xilema das plantas, e o intestino anterior (estomodeu) dos insetos, pertencentes à subordem Auchenorrhyncha (Redak et al., 2004). A bactéria é adquirida pelo inseto ao alimentar-se da seiva bruta, de uma planta infetada, e uma vez no interior do inseto, as células da bactéria ficam retidas no aparelho bucal (Almeida et al., 2005). A bactéria pode ser adquirida e transmitida em

menos de duas horas, não sendo necessário um período de latência (Agrios, 2005). Os vetores, uma vez adultos e portadores de *X. fastidiosa*, podem transmitir a bactéria por toda a sua vida, no entanto, não a transmitem para a descendência (Agrios, 2005) nem é possível ocorrer transmissão entre diferentes estados de desenvolvimento, uma vez que a ninfa perde a patogenicidade após a ecdise (perda da cutícula, e das bactérias aderidas a ela) (Morente & Fereres, 2017; EPPO, 2019). Depois dos insetos serem portadores da bactéria, podem transmiti-la a uma planta saudável, a curta distância (Landa et al., 2017) ou podem ser transportados pelo vento propagando a doença por distâncias mais longas (EFSA, 2015). As bactérias inoculadas na planta, vão disseminar-se pelo xilema, unir-se às paredes dos vasos onde se vão multiplicar e formar colônias (Bucci, 2018). Estas produzem, um biofilme (matriz complexa que inclui exopolissacarídeo (EPS), hemaglutininas e outras adesinas (Backus et al., 2012), que pode obstruir completamente os vasos do xilema, à medida que aumenta de tamanho, bloqueando o transporte de água e sais, levando ao aparecimento de sintomas (Bucci, 2018).

Os sintomas associados à presença de *X. fastidiosa* nas plantas, são muito variáveis e pouco específicos o que dificulta a sua deteção, pois podem confundir-se com outros sintomas de carência de nutrientes, stresse hídrico ou até mesmo a queima da folha (DGAV, 2021). As plantas que desenvolvem sintomas geralmente apresentam uma rápida secagem das margens das folhas jovens e as pontas (zona apical) das folhas começam a ficar secas e com cloroses (EFSA, 2015). A deteção da bactéria não é fácil dada a sua distribuição heterogénea nas plantas e à baixa concentração da mesma tanto nos vetores como nos tecidos assintomáticos de plantas (Francis et al., 2006).

#### **2.4.2. Distribuição**

*Xylella fastidiosa* é uma espécie oriunda do continente americano. Hipotetiza-se que este patógeno seja originário da América do Sul e Central, uma vez que nenhuma planta nativa apresenta ser suscetível a esta bactéria, sugerindo um longo período de co-evolução (Janse & Obradovic, 2010; Almeida & Nunney, 2015). O mesmo não é verificado na América do Norte onde vários hospedeiros nativos, como *Ulmus americana* L., *Platanus occidentalis* L. ou *Quercus* spp. apresentaram ser suscetíveis (Almeida & Nunney, 2015). A disseminação da bactéria por insetos vetores é relevante, porém apenas em curtas distâncias (Redak et al., 2004). Esta bactéria só pode invadir uma nova região quando há intervenção humana, isto é, transporte de plantas infetadas para locais com condições

ambientais adequadas para a sobrevivência do patógeno (Denancé et al, 2017). Quando esta bactéria é introduzida numa nova localização é rapidamente disseminada por insetos vetores nativos (Anderson et al., 2004; Fereres, 2015; Gergerich et al., 2015; Pautasso et al., 2015). Alternativamente, vetores infetados também podem ser transportados juntamente com as plantas e iniciar a disseminação (Denancé et al, 2017).

Na Europa, até 2013, só existiam registos esporádicos de sintomas de *X. fastidiosa* que não foram confirmados (Sicard, et al., 2018). Assim, a primeira deteção confirmada de *X. fastidiosa* na Europa, foi em 2013, em olivais no sul da Itália (Saponari et al., 2013). Depois deste primeiro foco, *X. fastidiosa* foi registada em outros países europeus. Entre 2015 e 2017, as subespécies *multiplex* e *pauca* foram detetadas em mais de 25 plantas hospedeiras, no sul da França e na Córsega (EPPO, 2016). Em 2016, a subespécie *fastidiosa* foi detetada em plantas de alecrim e oleandro na Alemanha (EPPO, 2016), no entanto, este foco foi erradicado. Ainda em 2016, as subespécies *multiplex*, *pauca* e *fastidiosa* foram detetadas em Espanha (Ilhas Baleares) em amendoeiras, videiras, cerejeiras e ameixeiras. Um ano mais tarde as entidades espanholas notificaram a presença da *X. fastidiosa* subespécie *multiplex* no amendoal em Alicante e em oliveira na região de Madrid (Bucci, 2018).

Em Portugal, *X. fastidiosa* foi detetada pela primeira vez em janeiro de 2019, em plantas de *Lavandula dentata* Linnaeus, em Vila Nova de Gaia (zona urbana), na sequência do Programa de Prospeção Nacional (DGAV, 2021). Após esta primeira deteção, foi realizada uma prospeção intensiva onde foram identificadas mais espécies infetadas. Após cada confirmação de um novo foco, e de forma a evitar a dispersão, e garantir a erradicação da bactéria é imediatamente estabelecida uma “Zona Demarcada”, que compreende a “Zona Infetada” que inclui todas as plantas suscetíveis num raio de 50 m e a “Zona Tampão” que circunda o foco de infeção, num raio de 2,5 Km (Portaria n.º 243/2020). Desde a primeira deteção, que as zonas demarcadas têm sido alargadas e atualmente abrange várias freguesias, de onze concelhos no Norte, (Despacho DGAV n.º 46/G/2021), 3 concelhos no Centro (Despacho DGAV n.º 40/2021) e 1 concelho no Sul (Despacho DGAV n.º 39/2021), sendo que, até agora só foi identificada em Portugal a *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* ST7 (Despacho DGAV n.º 46/G/2021).

### 2.4.3. Potenciais Vetores

No continente americano estão identificados vários insetos vetores de *X. fastidiosa*, destacando-se: *Graphocephala atropunctata* (Signoret), *Draeculacephala minerva* (Ball), *Xyphon fulgida* (Nottingham) (Redak et al., 2004) e *Homalodisca vitripennis* (Germar) (EFSA et al., 2019). *Homalodisca vitripennis* é o vetor mais significativo na Califórnia, este tem uma taxa de transmissão muito elevada, sendo capaz de transmitir *X. fastidiosa* às videiras, mesmo durante o inverno, quando a planta se encontra em dormência vegetativa (Morente & Fereres, 2017). Outros vetores como a *Acrogonia citrina* Marucci & Cavichioli, 2002, *Bucephalagonia xanthophis* (Berg, 1879), *Dilobopterus costalimai* Young, 1977, *Macugonalia leucomelas* (F. Walker, 1851), *Oncometopia facialis* (Signoret, 1854) e *Oncometopia nigricans* (F. Walker, 1851) (EFSA et al., 2019), estão associados a Clorose Variiegada dos Citrinos, no Brasil. De acordo com a base de dados da fauna europeia, todas as espécies de vetores americanos estão ausentes na Europa (EFSA, 2015).

Na Europa, todos os insetos que se alimentam de xilema são considerados potenciais vetores de *X. fastidiosa* (EFSA et al., 2019). A lista é vasta e inclui 120 espécies de 4 famílias (Streito et al., 2019), que pertencem à ordem Hemiptera (Auchenorrhyncha), infraordem Cicadomorpha, superfamílias Cercopoidea, Cicadoidea e família Cicadellidae (subfamília: Cicadellinae) (Redak et al., 2004; Morente & Fereres, 2017; Morente et al., 2018).

Alguns estudos verificaram que insetos que se alimentam de floema, Fulgoromorpha, também podem adquirir a bactéria (Purcell, 1980; Elbeaino et al., 2014; Ben Moussa, et al., 2016; Chuche et al, 2017). Estes insetos ocasionalmente alimentam-se de xilema para repor o potencial osmótico (Pompon et al., 2011), contudo, segundo Cavalieri et al. (2019), apesar de conseguirem adquirir a bactéria não a conseguem transmitir às plantas.

#### ***Superfamília Cercopoidea***

A Superfamília Cercopoidea compreende cinco famílias com aproximadamente 2600 espécies e 361 géneros (Dmitriev et al., 2021). Nesta superfamília, mais concretamente na família Aphrophoridae, a segunda maior deste grupo, encontram-se os principais vetores confirmados de *X. fastidiosa*, como *P. spumarius*, *P. italosignus* (Drosopoulos & Remane, 2000) e *Neophilaenus campestris* (Fallén, 1805) (Cavalieri et al.,

2019). Os indivíduos da família Cercopidae, com o maior número de espécies deste grupo, também são considerados potenciais vetores (Creasy & Creasy, 2009).

Na superfamília Cercopoidea, a duração do ciclo biológico e o número de gerações dos insetos variam com a espécie e as condições climáticas locais, no caso de *P. spumarius* é uma geração por ano. Este passa o inverno como ovo (Figura 7A), embora alguns adultos possam sobreviver quando as temperaturas são amenas (Saponari et al., 2014). Após a diapausa ( $\approx 100$  dias) ocorre a eclosão dos ovos, no início da primavera. As ninfas passam por cinco estágios de desenvolvimento (5-8 semanas) e mantêm-se cobertas por uma espuma mucilaginosa (Figura 7B) que as protege (Morente & Fereres, 2017). A produção de espuma é uma característica única da superfamília Cercopoidea e presume-se que para além de fornecer proteção, também evita a desidratação das ninfas (Figura 7C) (Dietrich, 2009). Os primeiros adultos (Figura 7D) aparecem durante o mês de abril ou maio e começam a acasalar no início do verão, permanecendo na vegetação circundante até que seque ou seja eliminada. Em Ohio (EUA) a primeira oviposição é em setembro e prolonga-se até ao inverno, enquanto que, em Espanha começa no início de novembro ou mesmo mais tarde, dependendo do clima (Morente & Fereres, 2017). Os ovos de *P. spumarius* são depositados em grupos de diferentes tamanhos (de 1 a 30, com média de 7) unidos por uma secreção, são ovais, de cor amarelada e possuem uma mancha laranja numa das extremidades, para eclodir precisam de humidade superior a 80%, assim como os restantes Cercopoidea, fator limitante para a sua dispersão (Morente & Fereres, 2017).

Os adultos são polimórficos com variação de padrão e cor dorsal. A ninfa e o adulto de *P. spumarius* são altamente polípagos e podem ser detetados em várias plantas e em diferentes habitats (EFSA, 2021). Os adultos tendem a deslocar-se e estabelecer-se em novas áreas, conforme as necessidades nutricionais, no caso de Itália encontra-se um grande número de indivíduos em oliveiras (Cornara et al., 2016); e pelo contrário, em Espanha, a sua presença em oliveiras, tem densidades muito baixas (Morente et al., 2017).

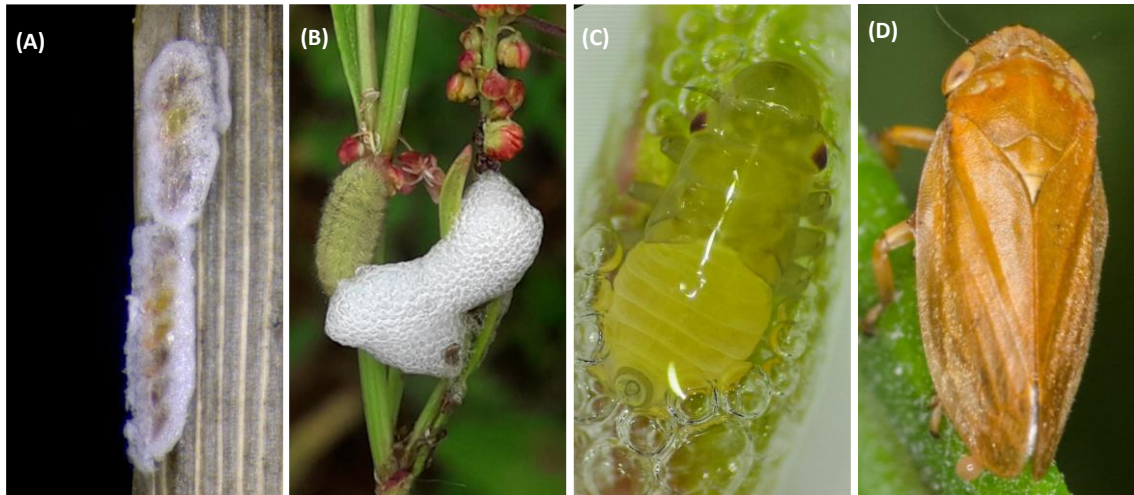


Figura 7. Diferentes fases do ciclo de vida de *Philaenus spumarius* (A), (C) e (D). (A) ovos unidos por secreção; (B) espuma mucilaginosa; (C) ninfa; (D) estado adulto. Fotos: Isabel Rodrigues.

### ***Superfamília Cicadoidea***

Os Cicadoidea, também são considerados potenciais vetores de *X. fastidiosa*. São insetos proeminentes na bacia do Mediterrâneo, porém o conhecimento sobre o seu papel na transmissão é ainda limitado (Cornara et al., 2020; EFSA, 2019).

As cigarras (Figura 8) inserem os ovos em tecidos lenhosos de árvores ou arbustos. As ninfas que eclodem dos ovos caem no chão e com as patas dianteiras fazem uma câmara de alimentação adjacente a uma raiz das árvores perenes, para se alimentar de xilema. O desenvolvimento das ninfas na maioria das espécies requer 2 a 6 anos (13 ou 17 anos, no caso das cigarras do América do Norte), no último estágio ninfal, emergem do subsolo para se transformar em adulto, geralmente no tronco de árvores (Van Emden, 2013).

Os machos adultos emitem sons para localizar as fêmeas, estas ao contrário de outras fêmeas Auchenorrhyncha (exceto Tettigarctidae) não produzem sons. Tanto as ninfas, como os adultos alimentam-se da seiva do xilema. Os adultos podem viver vários meses, embora a maioria das espécies viva apenas algumas semanas (Dietrich, 2009).



Figura 8. Cigarra adulta. Foto: Célia Gradíssimo.

***Família Cicadellidae (subfamília: Cicadellinae)***

A subfamília Cicadellinae inclui aproximadamente 1950 espécies descritas. Os indivíduos desta subfamília normalmente encontram-se em áreas com vegetação abundante, como pastagens ou campos de cereais (Redak & Blua, 2002). Grande parte da informação disponível sobre ciclo biológico e ecologia desta subfamília tem como referência a espécie *H. vitripennis*, o principal inseto vetor no continente americano. Porém este cicadélideo não tem expressão na Europa (Morente & Fereres, 2017).

*Cicadella viridis* (L.) é o principal Cicadellinae descrito na Europa, como potencial vetor de *X. fastidiosa*. Num estudo realizado por Bodino et al (2019), foi verificado que se trata de um vetor competente na aquisição da bactéria, mas com baixa eficiência na transmissão, no entanto, são necessários mais estudos de transmissão e com diferentes hospedeiros. O ciclo biológico desta espécie é caracterizado por ter três gerações por ano (Chu & Teng, 1950). Entre maio e junho surge a primeira geração, as ninfas alimentam-se de vários hospedeiros dando origem a novos adultos. As fêmeas da primeira e segunda geração depositam os ovos nas gramíneas, enquanto, a terceira geração surge em meados de agosto e nesta fase do ciclo, os adultos mudam-se para árvores lenhosas com o objetivo de ovipositar nos troncos, fechando assim o ciclo (Zhixian, 1996).

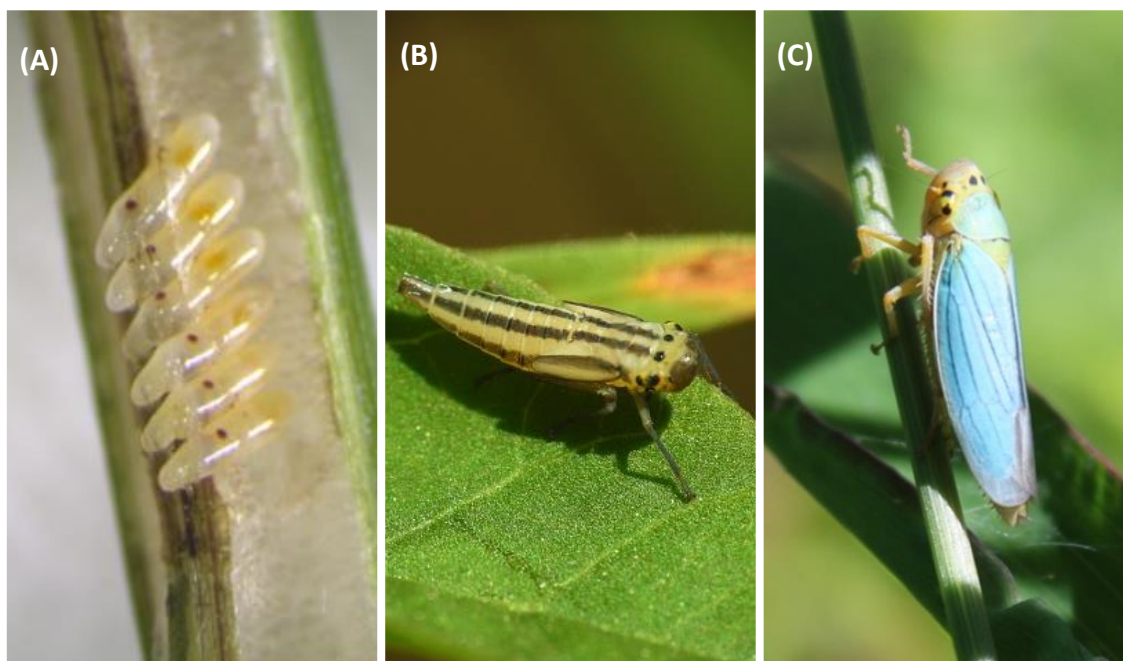


Figura 9. Diferentes fases do ciclo de vida de *Cicadella viridis* (A) ovos; (B) ninfa (C) estado adulto. Fonte: (A e B) Hasbroucq, et al.2020, (C) Isabel Rodrigues.

## 2.5. Doença de Pierce

Em 1892, Newton Pierce documentou pela primeira vez uma doença causada por *X. fastidiosa*, a doença de Pierce na videira (Sicard, et al., 2018). Inicialmente pensava-se que a doença fosse provocada por um vírus, porém após a década de 70 comprovou-se que se tratava de uma bactéria (Navarro, 2016). A doença de Pierce está presente na Califórnia desde 1990, onde é responsável por perdas económicas no setor vitivinícola que rondam os 92 milhões de Euros por ano. Foi com a introdução de um novo inseto vetor (*H. vitripennis*), vindo do sudeste dos EUA, que a propagação da doença aumentou drasticamente, levando à destruição de vários hectares de vinha (Hopkins & Purcell, 2002; Appel et al., s.d.)

### 2.5.1. Sintomatologia

As plantas com a doença de Pierce podem apresentar vários sintomas podendo ser confundidos com outras doenças ou stress hídrico. O desenvolvimento destes, varia de acordo com a estação do ano, principalmente da primavera ao outono (National Research Council, 2004). No final do verão ou início do outono, durante o primeiro ano de infeção, começam a aparecer os primeiros sintomas. As margens das folhas mais velhas, podem

ficar ligeiramente amareladas (cloróticas) e progredir para necroses (Figura 10A) ou ficar necróticas repentinamente, (queimadura foliar) (Figura 10B). Em ambos os casos, a parte restante do limbo permanece verde e no caso de castas tintas, geralmente aparece uma (des)coloração em tons vermelhos (Figura 10C) (Varela et al., 2001, De La Fuente, et al., 2017) e nas castas brancas, aparece uma clorose marginal (Figura 10A, D) (Appel et al., s.d.; EPPO, 2019). A expressão dos sintomas foliares pode variar e ocorrer sob a forma de cloroses marginais progressivas em zonas concêntricas, altamente regulares, seguidas de necrose, ou cloroses e necroses apenas em setores da folha (Varela et al., 2001). Os limbos secos das folhas caem (desfolhamento) e os pecíolos ficam presos nos ramos, como "palitos de fósforos" (Figura 10E), num período de dias ou semanas. Este sintoma é considerado muito específico da doença de Pierce, assim como, a formação de manchas verdes rodeadas de castanho, também designadas por "ilhas verdes", nas varas da videira, (Figura 10F), decorrentes da maturação irregular da periderme (Agrios, 2005; Jackson, 2008; EPPO, 2019). Alguns cachos ou a totalidade destes, podem secar (Figura 10F).

O aparecimento dos sintomas demora cerca de 5 meses (4 meses em áreas quentes) e normalmente apenas 1-2 varas apresentam sintomas, estes podem não ocorrer até ao final do verão (Varela et al., 2001).

Na primavera do ano seguinte à infeção, as videiras apresentam um crescimento retardado e atrofiado, geralmente com entrenós curtos, assim como, a rebentação de gomos irregular em que as primeiras 4-8 folhas de um rebento podem ser pequenas, distorcidas ou assimétricas e ter clorose internerval. As copas das videiras infetadas também vão ser menores (Varela et al., 2001; National Research Council, 2004; Jackson, 2008; EPPO, 2019).

No meio do verão, os sintomas de folhas secas reaparecem nas folhas basais e progridem em direção às extremidades da copa. Depois de algum tempo, o topo da videira morre e podem aparecer novos rebentos ou rebentos no porta-enxertos, mas que também se encontram infetados (Varela et al., 2001).

Os sintomas foliares em vinhas jovens e particularmente em variedades sensíveis, podem aparecer em toda a videira numa única estação, enquanto, em variedades menos sensíveis são menos óbvios ou não estão presentes (Varela et al., 2001; National Research Council, 2004).

As diferenças climáticas também afetam o momento e a gravidade da doença, em climas quentes os sintomas são acelerados devido ao stress hídrico, em climas frios são

retardados e os primeiros sintomas aparecem na primavera seguinte (Varela et al., 2001; National Research Council, 2004).

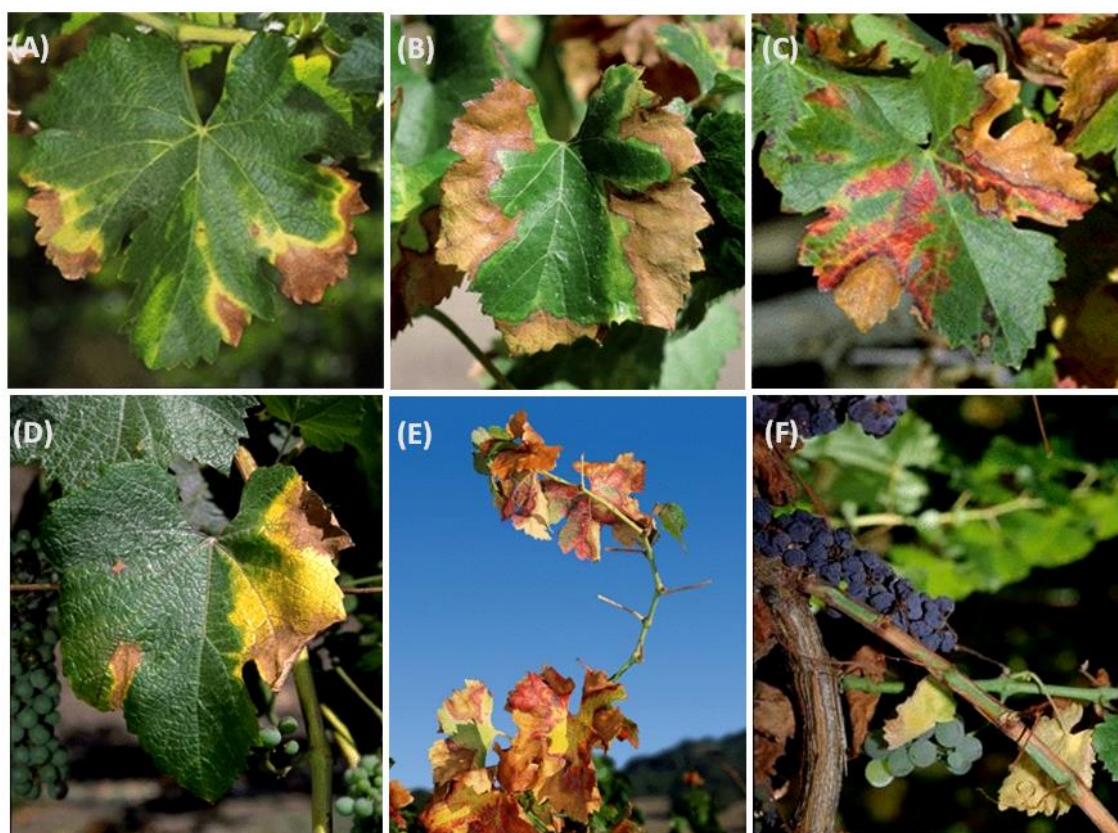


Figura 10. Sintomas da doença de Pierce (A) casta branca: margens da folha ligeiramente amareladas; (B) a folha pode tornar-se necrótica subitamente, sem clorose significativa com parte do limbo verde; (C) casta tinta com (des)coloração vermelha; (D) casta branca: a clorose e a necrose aparece apenas numa secção da folha; (E) desfolhamento da videira com pecíolos presos na vara; (F) “ilhas verdes”, nas varas da videira e cacho seco. Fonte: Varela et al., 2001.

### 2.5.2. Suscetibilidade das videiras

Todas as variedades de viníferas são suscetíveis à doença de Pierce, mas os níveis de tolerância variam acentuadamente, em videiras sensíveis, a transmissão frequentemente resulta numa rápida colonização bacteriana e movimento por toda a planta (Jackson, 2008). Outro fator determinante é a idade das plantas, as vinhas jovens são mais suscetíveis à doença, provavelmente porque são menos podadas e é retida mais madeira infetada (Varela et al, 2001). Tanto a variedade como a idade influenciam o tempo de sobrevivência de uma planta infetada. Algumas variedades resistentes/tolerantes podem conviver com infeções crónicas, por vários anos, como é o caso da Chenin Blanc, Ruby Cabernet, White Riesling

(Varela et al, 2001), Black Spanish (Lenoir, Jacquez), Blanc du Bois, Vitoria Red (Appel et al., s.d.) enquanto, variedades suscetíveis como Chardonnay, Pinot Noir, podem morrer durante o primeiro ano de infeção (Varela et al, 2001).

## **2.6. Medidas de controlo de *X. fastidiosa* e seus vetores**

A história tem mostrado que o Homem é o vetor mais eficaz quando se trata de propagar pragas e doenças (Creasy & Creasy, 2009) e como atualmente ainda não existe cura para plantas infetadas com *X. fastidiosa* (EFSA, 2019), a melhor forma de controlo é a prevenção da disseminação da bactéria para regiões onde ainda não está presente.

Na União Europeia, encontram-se regulamentadas medidas de quarentena (Regulamento (UE) n.º 2016/2031) e medidas fitossanitárias para evitar a introdução e dispersão da bactéria, em território Europeu (Regulamento de Execução (UE) n.º 2020/1201). De forma a assegurar a execução e cumprimento de tais medidas, a autoridade fitossanitária nacional (DGAV), ao abrigo do Dec. Lei n.º 67/2020, de 15 de setembro, estabelece a zona demarcada, as medidas para erradicação da bactéria e as restrições de movimentos de plantas destinadas a plantação na Zona de Infeção e Zona Tampão (Despacho n.º 46/G/2021).

A quarentena e as medidas fitossanitárias são a primeira linha de defesa para a erradicação da bactéria, mas devem ser apoiadas por outras estratégias como medidas de controlo químico, biológico ou medidas culturais.

O controlo de pragas de indivíduos de Auchenorrhyncha, tradicionalmente envolve o uso de produtos fitofarmacêuticos. Os inseticidas sistémicos piretróides, atuam ao nível do sistema nervoso dos insetos. Estes produtos, são muito utilizados nas vinhas, e tem-se mostrado eficientes contra *H. vitripennis*. Os neonicotinóides, atuam na relação entre o vetor e a bactéria afetando a orientação do vetor, ou no seu comportamento alimentar (Morente & Fereres, 2017). Embora os inseticidas sejam muito eficazes em algumas situações, geralmente não são as melhores ferramentas para o controlo da maioria dos insetos vetores (Purcell, 2009). O uso excessivo de inseticidas de contacto levou ao desenvolvimento de resistência em muitas espécies de pragas e suprimiu populações de inimigos naturais de Auchenorrhyncha (Dietrich, 2009). Inseticidas seletivos como a buprofezina, um regulador de crescimento de insetos, pode ser utilizado para o controlo eficaz de cigarrinhas e tem um impacto mínimo sobre os insetos auxiliares (Mani et al., 2014).

Em zonas afetadas pela doença de Pierce nos EUA, a utilização de caulino como barreira protetora contra os insetos, repelindo-os e evitando a oviposição, tem sido uma ferramenta utilizada como alternativa ao controlo convencional de vetores. Adultos e ninfas de *H. vitripennis* tendem a evitar plantas com caulino, mesmo quando não têm outra opção de alimentação, acabando por morrer (Morente & Fereres, 2017).

Ao nível do controlo biológico são conhecidos vários inimigos naturais de Auchenorrhyncha. Alguns predadores vertebrados como pássaros e pequenos lagartos, bem como, predadores invertebrados como a louva-a-deus, aranhas, formigas ou vespas, atacam ninfas e adultos de Cicadellinae e outros como larvas de coccinelídeos e crisopídeos, atacam posturas (Dietrich, 2009; Morente & Fereres, 2017). Algumas espécies de parasitoides do género *Gonatocerus* (Hymenoptera: Mymaridae) e da família Trichogrammatidae, parasitam os ovos de diferentes espécies do género *Homalodisca* sp (Overall & Rebeck, 2017). O díptero *Verrallia aucta* (Fallén) (Diptera: Pipunculidae) apresenta um alto índice de parasitismo em adultos de *P. spumarius* (Morente & Fereres, 2017). Diferentes espécies de fungos entomopatogénicos do género *Entomophthora* sp. (Ben Ze Ev e Kenneth, 1981) atacam adultos de *P. spumarius* (Morente & Fereres, 2017).

As abordagens mais eficazes de controlo de *X. fastidiosa* e dos seus vetores combinam vários métodos (Purcell, 2009). A adoção de medidas culturais como por exemplo, a utilização de variedades de plantas mais resistentes, a remoção de infestantes e plantas hospedeiras alternativas, assim como, de resíduos vegetais dentro das vinhas e zonas circundantes, para reduzir o número de indivíduos que hibernam; ou a remoção das folhas basais, no início da estação quando a maioria dos ovos já foi colocada, reduz efetivamente o número de indivíduos e é também uma boa primeira linha de defesa contra a infestação de cigarrinhas (Creasy & Creasy, 2009; Mani et al., 2014).

As cigarrinhas preferem plantas muito vigorosas, pelo que, as videiras devem ser fertilizadas de forma a manter o crescimento moderado, assim como, a irrigação também deve ser controlada, os aumentos na quantidade de água aplicada estão correlacionados com os aumentos na densidade de ninfas (Mani et al., 2014).

Para se obter um controlo mais eficiente dos insetos vetores é importante fazer a sua monitorização e deteção precoce. Alguns autores recomendam a colocação de armadilhas adesivas amarelas, contudo, a sua utilização para este fim tem caído em desuso uma vez que não se têm mostrado eficazes. A rede de varredura, com contagem do número de indivíduos tem sido a metodologia mais aconselhada. A inspeção visual das folhas pode ser muito útil para a contagem de ninfas ou contagem de ovos (Mani et al., 2014).





# Capítulo 3.

Material e métodos

## Material e métodos

### 3.1. Caracterização da área em estudo

O presente trabalho foi conduzido em vinhas na Região Demarcada do Douro, no total foram amostradas dez vinhas que se encontram distanciadas entre si, ao longo das duas margens do rio Douro com altitudes compreendidas entre 78-291 m (Figura 11). As áreas agrícolas circundantes as vinhas amostradas caracterizam-se por estarem maioritariamente ocupadas por outras vinhas.

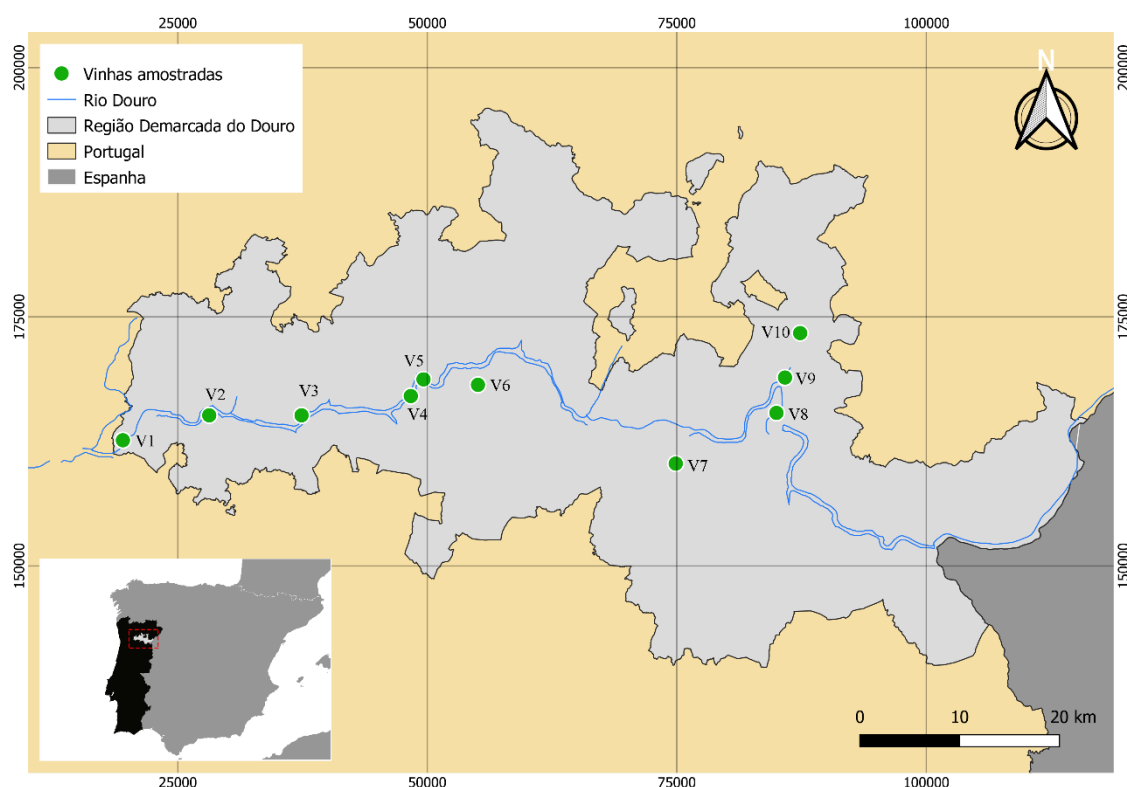


Figura 11. Pontos de amostragem na Região Demarcada do Douro. Mapa projetado em ETRS89/PT-TM06.

As vinhas amostradas foram caracterizadas quanto à localização (latitude e longitude), altitude, castas, sistematização do terreno, compasso de plantação, tipo de poda, área e modo de produção (Quadro 1). Das castas presentes nas vinhas amostradas verifica-se que a Touriga Franca e a Touriga Nacional são as mais utilizadas, assim como, o sistema de condução Royat unilateral. A seleção das vinhas para amostragem, teve em conta a aplicação de boas práticas agrícolas e o modo de produção utilizado, descartando vinhas muito intervencionadas com preferência por parcelas em modos de produção Biológico (MPB), sem aplicação de produtos de síntese química e Modo de Proteção Integrada (MPI),

em que a aplicação de produtos fitofarmacêuticos é feita de forma sustentável e o coberto vegetal é mantido por grande parte do ano.

Quadro 1. Caracterização das vinhas amostradas quanto à localização, altitude, castas, sistematização do terreno, compasso de plantação, tipo de poda, área e modo de produção (MPB-Agricultura Biológica, MPI- Proteção Integrada)

Nome da vinha	Latitude	Longitude	Altitude (m)	Castas	Sistematização do terreno	Compasso plantação (m)	Tipo de poda	Área (ha)	Modo de produção
V1	41°06'59.5"N	7°59'12.9"W	201	Viognier	s/ Sist.	1,2 x 2,0	Royat unilateral	0,49	MPB
V2	41°09'16.8"N	7°47'51.9"W	78	Tinto Cão	s/ Sist.	1,2 x 2,1	Guyot	1,18	MPI
V3	41°09'06.9"N	7°41'23.6"W	106	Touriga Franca	Patamares largos 1linha	0,9 x 4,5	Royat unilateral	0,82	MPB
V4	41°10'33.5"N	7°33'03.5"W	139	Touriga Nacional	Patamares estreitos 1linha	0,8 x 2,3	Royat unilateral	1,55	MPI
V5	41°10'47.4"N	7°32'09.3"W	232	Touriga Nacional	Patamares estreitos 1linha	0,9 x 2,5	Royat unilateral	1,16	MPI
V6	41°12'21.5"N	7°29'16.2"W	280	Touriga Franca	Patamares estreitos 1linha	1,0 x 2,2	Royat unilateral	1,65	MPI
V7	41°09'07.4"N	7°17'56.7"W	291	Touriga Franca	Patamares largos 3linhas	1,0 x 2,0	Royat bilateral	0,82	MPI
V8	41°08'55.1"N	7°07'36.8"W	150	Sousão	s/ Sist.	1,0 x 2,2	Royat bilateral	0,86	MPI
V9	41°11'05.0"N	7°06'35.4"W	133	Tinto Cão	Vinha ao alto	1,0 x 2,0	Royat unilateral	1,45	MPI
V10	41°13'29.0"N	7°05'27.9"W	125	Touriga Nacional	s/ Sist.	0,95 x 2,2	Royat unilateral	1,89	MPI

As operações culturais realizadas, com possível impacto nas comunidades de insetos, encontram-se descritas no Quadro 2. A mobilização superficial do solo, apenas ocorreu nas vinhas em modo de produção biológico (V1 e V3) e a aplicação de herbicida só foi observado na V4. Relativamente ao corte do coberto vegetal, este foi transversal a todas as vinhas amostradas, contudo, estas intervenções foram realizadas em março/abril/maio não tendo interferência com a amostragem realizada. A aplicação de produtos fitofarmacêuticos foi à base de fungicidas para todas as vinhas, e de inseticidas na Vinha 5 e Vinha 2, no caso desta última, existe a obrigatoriedade de realização de um tratamento para o vetor da flavescência Dourada (Circular de Avisos Agrícolas N.º 08/2019 - SNAAs).

Quadro 2. Operações culturais e produtos fitofarmacêuticos utilizados, nas vinhas amostradas

Nome da vinha	Mobilização	Corte do coberto vegetal	Herbicidas aplicados	Inseticidas aplicados	Fungicidas aplicados por tratamento
V1	Sim	Sim			enxofre e cobre
V2	Não	Sim		deltametrina	1º- enxofre 2º- cobre (oxicloreto) + mandipropamida 3º- enxofre 4º- difenoconazol; enxofre 5º- piriofenona; meptildinocape
V3	Sim	Sim			enxofre e cobre
V4	Não	Sim	glifosato		1º- enxofre 2º- cobre (oxicloreto) + mandipropamida 3º- enxofre 4º- difenoconazol; enxofre 5º- piriofenona; meptildinocape
V5	Não	Sim		lambda-cialotrina	1º- enxofre 2º- penconazol; cimoxanil+folpete+fosetil-alumínio; folpete+iprovalicarbe 3º- enxofre 4º- espiroxamina; meptildinocape; penconazol; cimoxanil+folpete+fosetil-alumínio; folpete+iprovalicarbe 5º- meptildinocape; penconazol; meptildinocape; cimoxanil+oxicloreto de cobre
V6	Não	Sim			1º- Espiroxamina; cimoxanil+folpete+fosetil-alumínio 2º- Espiroxamina; cimoxanil+folpete+fosetil-alumínio 3º tebuconazol+trifloxistrobina; folpete+fosetil-alumínio+iprovalicarbe 4º- cresoxime-metilo+penconazol; folpete+metalaxil 5º- boscalide+cresoxime-metilo; folpete+metalaxil-M 6º- cresoxime-metilo+penconazol; cobre (sulfato de cobre e cálcio – mistura bordalesa)
V7	Não	Sim			1º- folpete+metalaxil; Enxofre molhável 2º- folpete+metalaxil; penconazol 3º- fluopirame+tebuconazol 4º- sulfato de cobre e cálcio; boscalide+cresoxime-metilo
V8	Não	Sim			1º- enxofre molhável; fossetil alumínio 2º- cimoxanil; fossetil alumínio; espiroxamina 3º- cresoxime-metilo; penconazol boscalide; cresoxime-metilo

V9	Não	Sim	1º- enxofre molhável; fossetil alumínio 2º- cimoxanil; fossetil alumínio; espiroxamina 3º- cresoxime-metilo; penconazol boscalide; cresoxime-metilo
V10	Não	Sim	1º- enxofre molhável; fossetil alumínio 2º- cimoxanil; fossetil alumínio; espiroxamina 3º- cresoxime-metilo; penconazol boscalide; cresoxime-metilo

### 3.3. Amostragem das vinhas

A amostragem da comunidade de Auchenorrhyncha decorreu em 2019, em três períodos distintos: julho setembro e outubro. A escolha dos períodos teve por base trabalhos anteriores que indicavam que julho corresponde ao final do período de emergência dos vetores e potenciais vetores de *X. fastidiosa* e especula-se que iniciem, neste período, o seu comportamento migratório quer da vegetação herbácea para a copa da videira, ou da vinha para áreas adjacentes. E, em setembro e outubro corresponde ao período em que os insetos retornam aos ecossistemas originais para efetuarem as posturas que darão início a uma nova geração (Cruaud et al., 2018; Morente et al., 2018; Antonatos et al., 2020).

Em cada vinha e em cada período selecionado a amostragem incidiu em dois estratos distintos, nomeadamente na copa da videira, e no coberto vegetal da entrelinha da vinha, com recurso de uma rede entomológica. Para a amostragem na copa das videiras (Figura 12A), foram selecionados dez pontos arbitrários distribuídos na parcela e afastados entre si, onde foram realizadas 50 varreduras contínuas sobre a parte aérea da videira, constituindo-se assim 10 amostras independentes. A amostragem do coberto vegetal foi realizada nas entrelinhas das vinhas (Figura 12B). Assim, em cada parcela foram selecionados dez pontos aleatórios afastados entre si, e em cada ponto foram realizadas 10 varreduras com duas batidas (uma por direção), num espaço de 100 m, constituindo-se assim uma amostra. As amostras foram devidamente identificadas e os artrópodes capturados foram imediatamente mortos com éter, para reduzir possível predação, e levados para o laboratório onde foram congelados a -20 °C, para posterior triagem e identificação.



Figura 12. Técnicas de varredura efetuada com recurso a redes entomológicas nos dois estratos: (A); copa da videira e (B) coberto vegetal da entrelinha.

### 3.4. Triagem e identificação dos indivíduos da Subordem Auchenorrhyncha

Com o auxílio de uma lupa binocular procedeu-se a uma triagem inicial para retirar o material vegetal recolhido na amostragem, separando os artrópodes. Posteriormente, todos os indivíduos da subordem Auchenorrhyncha foram separados dos restantes artrópodes, e foram acondicionados em tubos com álcool a 96% para posterior identificação.

Os adultos de Auchenorrhyncha foram inicialmente separados por morfoespécies de acordo com a observação de características morfológicas externas e com o auxílio de chaves dicotómicas disponíveis na literatura (Biedermann & Niedringhaus 2009). Posteriormente, de cada morfoespécie procedeu-se à preparação da genitália masculina, para a identificação até ao nível taxonómico de espécie. Na preparação das genitálias a parte apical do abdómen dos machos foi cortada e colocada numa solução aquecida de hidróxido de potássio (KOH) a 10%, entre 20 segundos a 3 minutos, dependendo das características de cada exemplar. Indivíduos mais claros e menos esclerotizados foram colocados menos tempo em comparação com indivíduos mais escuros e esclerotizados. De seguida, o pigóforo foi colocado em glicerina para a remoção dos restantes segmentos abdominais e dos tecidos moles. A genitália foi montada numa lâmina com glicerina e celada com verniz. A classificação taxonómica foi baseada em chaves e ilustrações apropriadas para o efeito (Alexandrovich Dmitriev and Nickel, 2006; Biedermann & Niedringhaus, 2009; Dietrich, 2005; Le Quesne and Payne, 1981; Nielson, 1968; Walter,

1965). Relativamente às fêmeas, estas foram identificadas até ao nível taxonómico mais baixo possível. Se todos os machos de um género numa amostra específica correspondiam a uma espécie, então as fêmeas desse mesmo género foram consideradas dessa espécie, após a observação cuidadosa das características morfológicas. No caso de existir mais de uma espécie num género em particular, as fêmeas pertencentes a esse género identificadas como morfoespécies e designadas por género ou subfamília seguido de "sp." e um número, de acordo com o morfotipo (ex. *Psammattetix* sp.1 ou *Deltocephalinae* sp.1). Por fim, foi montada uma coleção de referência das espécies identificadas, que é parte integrante deste trabalho (ver Anexo).

### 3.5. Análise de dados

#### 3.5.1. Estrutura da comunidade de Auchenorrhyncha

A estrutura da comunidade de Auchenorrhyncha foi avaliada em termos de abundância, riqueza e diversidade. Apresentou-se o número total de indivíduos e a sua frequência relativa por estrato e data de amostragem. Para medir a riqueza e diversidade de espécies na RDD, foi determinada a riqueza específica e dois índices de diversidade: Índice de Diversidade Shannon Wiener ( $H'$ ) e o Índice de Equitabilidade de Pielou ( $J'$ ).

#### *Índice de diversidade de Shannon-Wiener ( $H'$ )*

O Índice de Shannon-Wiener mede o grau de incerteza em prever a que espécie pertencerá um indivíduo escolhido, ao acaso, de uma amostra com  $S$  espécies e  $N$  indivíduos. Como tal, este índice reflete não só a riqueza em espécies de uma comunidade, mas também o modo como os indivíduos nela se repartem (Martins et al., 2014). Tem a vantagem de não ser necessário identificar as espécies presentes; basta poder distinguir uma de outra para realizar a contagem dos indivíduos de cada uma delas e a contagem total. A sua determinação é feita recorrendo à seguinte fórmula (Pla, 2006):

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i$$

onde:

$S$  – número de espécies (a riqueza de espécies)

$p_i$  – proporção de indivíduos da espécie  $i$  em relação ao número total de indivíduos na comunidade (isto é, a abundância relativa de espécies  $i$ )

$$p_i = \frac{n_i}{N}$$

em que:

$n_i$  – número de indivíduos da espécie  $i$

$N$  – número total de indivíduos de todas as espécies

Este índice ( $H'$ ) é expresso como um número positivo, que na maioria dos ecossistemas naturais varia entre 0,5 e 5, embora o seu valor normal esteja entre 2 e 3; valores abaixo de 2 são considerados baixos em diversidade e maiores que 3 são altos em diversidade de espécies. Não tem limite superior ou em qualquer caso é dado pela base do logaritmo que se utiliza (Pla, 2006).

Dessa forma, o índice considera o número de espécies presentes na área de estudo (riqueza de espécies), e o número relativo de indivíduos de cada uma dessas espécies (abundância).

#### *Índice de equitabilidade de Pielou ( $J'$ )*

O índice de Pielou é obtido pela razão entre dois valores de diversidade, a diversidade da amostra e a diversidade máxima teórica dessa mesma amostra, obtida quando as espécies presentes são representadas pelo mesmo número de exemplares. Deste modo, este índice expressa a forma como os indivíduos estão distribuídos entre as diferentes espécies (Martins et al., 2014). O índice de Pielou varia entre 0 e 1. Não pode apresentar valores superiores a 1 e na prática só excepcionalmente apresenta valores superiores a 0,9. Valores baixos indicam que a amostra é dominada por poucas espécies. Assim, o índice é máximo quando todas as espécies capturadas são igualmente abundantes e mínimo quando apenas uma espécie domina a comunidade. É expresso de acordo com:

$$J = \frac{H'}{H'_{max}}$$

Em que  $H'$  = Índice de Shannon e  $H'_{max} = \log_2 S$ .

#### **3.5.2. Diferenças entre as comunidades de Auchenorrhyncha**

Para analisar as diferenças das comunidades de Auchenorrhyncha entre as diferentes vinhas amostradas, realizou-se uma Análise Multivariada Permutacional de Variância (PERMANOVA), usando a função `adonis2` do pacote “vegan” no software R (R core

Team, 2020). A matriz de dissimilaridade de Bray-Curtis foi usada como resposta e as diferentes vinhas amostradas como variável explicativa.

O número de permutações foi restringido pelo gráfico, sendo que foram usadas 999 permutações. Os níveis de resposta foram analisados por meio de comparações por pares, com correção de Bonferroni, para testes múltiplos usando a análise multivariada da variância (MANOVA) (função `pairwise.perm.manova` do pacote “RVAideMem-oire” (Hervé, 2020). A variância entre as comunidades foi testada usando a função `betadisper` no mesmo pacote seguido por um teste de permutação para homogeneidade de dispersões multivariadas usando a função `permutest` no mesmo pacote (Xia et al., 2018). Quando se verificaram diferenças entre os grupos, estas foram verificadas com o teste HSD de Tuckey usando a função `TukeyHSD`. Adicionalmente, para ter uma noção visual da distribuição da abundância e riqueza de espécies nas diferentes vinhas amostradas, foram produzidos diferentes mapas da Região Demarcada do Douro com informações sobre a abundância de espécie nos diferentes estratos e datas amostradas. Todos os mapas foram feitos no software QGIS (versão 3.18.0-Zürich) e todas as camadas foram projetadas em European Terrestrial Reference System 1989 / Portugal - Transverse Mercator 06 (ETRS89 / PT-TM06), a projeção nacional recomendada do DATUM ETRS89.

Relativamente à análise das diferenças entre as comunidades de Auchenorrhyncha por estratos e pelas datas de amostragem, foi realizada um escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) utilizando o índice de Bray-Curtis (999 permutações) que considera a presença ou ausência de táxons, bem como a abundância entre as amostras. A análise foi feita com recurso da função `metaMDS` do pacote “vegan” do software R. Foram feitos três gráficos, um representando as diferenças da comunidade entre estratos, outro entre datas e por fim um gráfico em que é possível observar a interação entre estrato e datas de amostragem. Os gráficos foram produzidos com recurso a função “`ggplot`” do pacote “`ggplot2`” do software R. Para validar os resultados obtidos pela análise NMDS, foi realizada uma análise de PERMANOVA, seguindo os mesmos critérios mencionados anteriormente. Os principais efeitos foram analisados assim como a sua interação. A variância entre as comunidades foi também testada.

### **3.5.3. Esforço de amostragem**

De forma a avaliar a suficiência do esforço de amostragem na determinação do número de espécies de Auchenorrhyncha presentes nas vinhas durienses procedeu-se ao

desenho de curvas de acumulação de espécies em função do número de vinhas amostradas por data e por estrato amostrado. As curvas de acumulação de espécies foram computadas com recurso à função `specaccum` do pacote “vegan” (Oksanen et al., 2019).

Adicionalmente, foi realizada uma análise de co-inércia (CIA), para determinar a relação entre as espécies de Auchenorrhyncha e o tipo de estrado e data de amostragem. Esta análise, também foi realizada no *R* utilizando o pacote `ade4` e a função `table.value` para visualizar os resultados.



# Capítulo 4.

Resultados

## 4. Resultados

### 4.1. Estrutura da comunidade de Auchenorrhyncha

No total, foram recolhidos 3463 indivíduos da subordem Auchenorrhyncha, sendo que 3072 são da infraordem Cicadomorpha e 391 da infraordem Fulgoromorpha. Na infraordem Cicadomorpha, foram identificadas 54 espécies pertencentes a duas famílias (Aphrophoridae e Cicadellidae) e na infraordem Fulgoromorpha foram identificadas 22 espécies distribuídas em seis famílias (Caliscelidae, Cixiidae, Delphacidae, Dictyopharidae, Issidae e Tettigometridae) (Quadro 3). A cigarrinha verde, *Empoasca vitis*, foi a espécie mais abundante e frequente representando 31,45 % dos indivíduos capturados, seguindo-se *Psammotettix* sp.1 com a frequência de 8,87 %, ambas as espécies pertencem à infraordem Cicadomorpha. Relativamente à infraordem Fulgoromorpha a espécie com maior abundância foi *Unkanodes excisa* (Melichar, 1898) com uma frequência de 7,22% seguindo-se *Laodelphax striatellus* (Fallén, 1826) com uma frequência de 0,98%.

Na copa das videiras, foram identificados no total 1188 indivíduos, pertencentes a sete famílias e 41 espécies (Quadro 3). Neste estrato, a população de Auchenorrhyncha foi dominada por indivíduos da subfamília Typhlocybae, representando 89% do total de indivíduos capturados na copa das videiras, seguindo-se a subfamília Deltocephalinae com 5% e Agalliinae com 4%.

No coberto vegetal, onde foram recolhidos 2275 exemplares, foram identificadas oito famílias e 67 espécies (Quadro 3). Neste estrato os indivíduos da subfamília Deltocephalinae foram capturados com mais frequência, representando 54% do total de indivíduos identificados no coberto vegetal, seguindo-se a subfamília Typhlocybae, com 19% e a família Delphacidae, com 14%. As restantes famílias e subfamílias de Cicadellidae representaram menos de 13% do total de indivíduos identificados no coberto vegetal.

No que respeita aos períodos de amostragem, verificou-se que na amostragem de julho foi observado a maior ocorrência simultaneamente de indivíduos (1626) e espécies (52) enquanto na amostragem de setembro foi onde se verificou o menor número de indivíduos (734). A amostragem de setembro e outubro apresentaram o mesmo número de espécies (49) (Quadro 3).

Relativamente à interação entre o estrato e data de amostragem, em todas as datas de amostragem, o coberto vegetal foi o estrato onde se identificou sempre o maior número de indivíduos e espécies. Neste estrato, na amostragem de julho foi onde se identificou o maior número de indivíduos e espécies (1081 e 46 respetivamente) seguindo-se outubro

(809 e 45 respectivamente) e setembro (385 e 42 respectivamente). Espécies do género *Psammotettix* foram dominantes no coberto vegetal em todas as datas de amostragem, representando mais de 30% dos indivíduos capturados. A copa da videira foi onde se observou o menor número de indivíduos e espécies em todas as datas de amostragem. Assim como o verificado no coberto vegetal, a copa da videira também apresentou o maior número de indivíduos e espécies na amostragem de julho (542, 30 respectivamente), seguindo-se setembro com 349 indivíduos identificados e outubro com 297 indivíduos. Relativamente ao número de espécies identificadas nas duas últimas datas de amostragem, contrariamente ao verificado no número total de indivíduos, foi a amostragem de outubro onde se identificou o maior número de espécies (20) seguindo-se setembro com 15 espécies identificadas. A cigarrinha verde, *E. vitis*, foi a espécie mais frequente representando mais de 70% dos indivíduos identificados na copa da videira em todas as datas de amostragem.

No que diz respeito a vetores e potenciais vetores de *X. fastidiosa*, apenas foram identificadas três espécies e em número reduzido, nomeadamente, *N. campestris* (38 indivíduos), *P. spumarius* (19 indivíduos) e *C. viridis* (5 indivíduos) (Figura 13), com maior número de capturas em outubro e no coberto vegetal (Quadro 3).

Quadro 3. Número total (N) e frequência (F) de adultos de Auchenorrhyncha recolhidos em junho, setembro e outubro de 2019 na copa da videira e coberto vegetal, em vinhas da Região Demarcada do Douro, vetores e potenciais vetores de *Xylella fastidiosa*.

Infraordem	Família	Subfamília	Espécie	Copa						Coberto Vegetal						Total Geral	
				julho		setembro		outubro		julho		setembro		outubro			
				N	F (%)	N	F (%)	N	F (%)	N	F (%)	N	F (%)	N	F (%)	N	F (%)
Cicadomorpha	Aphrophoridae		<i>Neophilaenus campestris</i> (Fallén, 1805)	0	0	0	0	2	0,67	0	0	0	0	36	4,45	38	1,10
			<i>Philaenus spumarius</i> (Linnaeus, 1758)	4	0,74	0	0	3	1,01	2	0,19	3	0,78	7	0,87	19	0,55
	Cicadellidae	Agalliinae	<i>Agallia consobrina</i> Curtis, 1833	3	0,55	1	0,29	7	2,36	1	0,09	0	0	2	0,25	14	0,40
<i>Anaceratagallia laevis</i> (Ribaut, 1935)			4	0,74	1	0,29	5	1,68	65	6,01	13	3,38	66	8,16	154	4,45	
			<i>Anaceratagallia venosa</i> Fourcroy, 1785	8	1,48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0,23
			<i>Austroagallia sinuata</i> (Mulsant & Rey, 1855)	4	0,74	4	1,15	2	0,67	25	2,31	7	1,82	6	0,74	48	1,39
			<i>Dryodurgades antoniae</i> (Melichar, 1907)	1	0,18	0	0	2	0,67	2	0,19	0	0	6	0,74	11	0,32
		Aphrodinae	<i>Aphrodes</i> sp1	0	0	0	0	0	0	1	0,09	1	0,26	0	0	2	0,06
			<i>Stroggylocephalus</i> sp1	0	0	0	0	0	0	1	0,09	0	0	0	0	1	0,03
		Cicadellinae	<i>Cicadella viridis</i> (Linnaeus, 1758)	0	0	0	0	0	0	2	0,19	1	0,26	2	0,25	5	0,14
		Deltocephalinae	<i>Athysanus argentarius</i> Metcalf, 1955	0	0	0	0	0	0	8	0,74	3	0,78	0	0	11	0,32
			<i>Balclutha frontalis</i> (Ferrari, 1882)	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0,52	2	0,25	4	0,12
			<i>Balclutha punctata</i> (Fabricius, 1775)	0	0	0	0	0	0	0	0	5	1,30	10	1,24	15	0,43
			<i>Balclutha</i> sp1	1	0,18	0	0	2	0,67	15	1,39	1	0,26	7	0,87	26	0,75
			<i>Balclutha</i> sp2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,12	1	0,03
			<i>Cicadula</i> sp1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,12	1	0,03
			Deltocephalinae sp1	1	0,18	0	0	0	0	1	0,09	0	0	0	0	2	0,06
			Deltocephalinae sp2	0	0	0	0	0	0	1	0,09	0	0	0	0	1	0,03
			<i>Doliotettix lunulatus</i> (Zetterstedt, 1840)	4	0,74	0	0	0	0	49	4,53	30	7,79	94	11,62	177	5,11
			<i>Enantiocephalus</i> sp1	0	0	0	0	0	0	1	0,09	0	0	0	0	1	0,03
			<i>Euscelidius variegatus</i> (Kirschbaum, 1858)	2	0,37	0	0	0	0	26	2,41	1	0,26	12	1,48	41	1,18
			<i>Euscelis incisus</i> (Kirschbaum, 1858)	0	0	0	0	0	0	27	2,50	2	0,52	0	0	29	0,84
			<i>Euscelis ohausi</i> Wagner, 1939	1	0,18	0	0	0	0	7	0,65	1	0,26	0	0	9	0,26
			<i>Exitianus capicola</i> (Stal, 1855)	0	0	0	0	0	0	22	2,04	18	4,68	47	5,81	87	2,51
			<i>Goniagnathus brevis</i> (Herrich-Schäffer, 1835)	0	0	0	0	0	0	10	0,93	1	0,26	1	0,12	12	0,35
			<i>Goniagnathus guttulinervis</i> (Kirschbaum, 1868)	0	0	0	0	0	0	12	1,11	8	2,08	4	0,49	24	0,69
			<i>Hardya tenuis</i> (Germar, 1821)	0	0	1	0,29	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,03
			<i>Macrostelus alpinus</i> (Zetterstedt, 1828)	0	0	0	0	0	0	2	0,19	1	0,26	1	0,12	4	0,12
			<i>Neoliturus fenestratus</i> (Herrich-Schäffer, 1834)	9	1,66	0	0	0	0	36	3,33	4	1,04	13	1,61	62	1,79
			<i>Phlepsius ornatus</i> (Perris, 1857)	0	0	0	0	0	0	7	0,65	4	1,04	2	0,25	13	0,38
			<i>Platymetopius major</i> (Kirschbaum, 1868)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0,25	2	0,06
			<i>Psammotettix</i> sp1	9	1,66	1	0,29	2	0,67	237	21,92	25	6,49	33	4,08	307	8,87
			<i>Psammotettix</i> sp2	0	0	3	0,86	19	6,40	7	0,65	66	17,14	199	24,60	294	8,49

Infraordem	Família	Subfamília	Espécie	Copa						Coberto Vegetal						Total Geral	
				julho	setembro	outubro	julho	setembro	outubro								
			<i>Psammotettix</i> sp3	1	0,18	0	0	0	0	9	0,83	12	3,12	8	0,99	30	0,87
			<i>Psammotettix</i> sp4	0	0	0	0	0	0	40	3,70	11	2,86	5	0,62	56	1,62
			<i>Psammotettix</i> sp5	0	0	0	0	0	0	0	0	19	4,94	18	2,22	37	1,07
			<i>Psammotettix</i> sp6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0,25	2	0,06
			<i>Rhopalopyx vitripennis</i> (Flor, 1861)	0	0	0	0	0	0	9	0,83	9	2,34	4	0,49	22	0,64
			<i>Sardius argus</i> (Marshall, 1866)	0	0	0	0	1	0,34	0	0	4	1,04	9	1,11	14	0,40
			<i>Scaphoideus titanus</i> Ball, 1932	2	0,37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0,06
		Dorycephalinae	<i>Eupelix cuspidata</i> (Fabricius, 1775)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,26	0	0	1	0,03
		Idiocerinae	<i>Idiocerus lituratus</i> (Fallén, 1806)	0	0	0	0	1	0,34	0	0	0	0	0	0	1	0,03
		Megophthalminae	<i>Megophthalmus scabripennis</i> Edwards, 1915	0	0	0	0	0	0	1	0,09	0	0	0	0	1	0,03
		Typhlocybinae	<i>Alebra coryli</i> Le Quesne, 1977	22	4,06	0	0	0	0	2	0,19	0	0	0	0	24	0,69
			<i>Arboridia</i> sp1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,26	1	0,12	2	0,06
			<i>Empoasca vitis</i> (Göthe, 1875)	379	69,93	326	93,41	220	74,07	73	6,75	36	9,35	55	6,80	1089	31,45
			<i>Eupteryx</i> sp1	0	0	0	0	0	0	3	0,28	1	0,26	0	0	4	0,12
			<i>Eupteryx</i> sp2	0	0	1	0,29	4	1,35	0	0	0	0	1	0,12	6	0,17
			<i>Fruticidia bisignata</i> (Mulsant & Rey, 1855)	0	0	0	0	2	0,67	0	0	0	0	0	0	2	0,06
			<i>Jacobiasca lybica</i> (Bergevin & Zanon, 1922)	0	0	0	0	2	0,67	0	0	0	0	0	0	2	0,06
			<i>Ribautiana tenerrima</i> (Herrich-Schäffer, 1834)	4	0,74	3	0,86	9	3,03	0	0	0	0	2	0,25	18	0,52
			<i>Zygina ordinaria</i> (Ribaut, 1936)	2	0,37	0	0	3	1,01	0	0	0	0	1	0,12	6	0,17
			<i>Zygina</i> sp1	50	9,23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	1,44
			<i>Zyginidia scutellaris</i> (Herrich-Schäffer, 1838)	18	3,32	2	0,57	5	1,68	214	19,80	25	6,49	15	1,85	279	8,06
Fulgoromorpha	Caliscelidae		Caliscelidae sp1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,26	1	0,12	2	0,06
			Caliscelidae sp2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0,52	0	0	2	0,06
	Cixiidae		<i>Pentastiridius leporinus</i> (Linnaeus, 1761)	2	0,37	0	0	0	0	5	0,46	0	0	0	0	7	0,20
			<i>Trigonocranus emmeae</i> Fieber, 1876	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,12	1	0,03
	Delphacidae		<i>Asiraca clavicornis</i> (Fabricius, 1794)	1	0,18	0	0	0	0	3	0,28	0	0	6	0,74	10	0,29
			<i>Kelisia guttula</i> (Germar, 1818)	1	0,18	1	0,29	0	0	2	0,19	3	0,78	4	0,49	11	0,32
			<i>Kelisia</i> sp1	0	0	1	0,29	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,03
			<i>Laodelphax striatellus</i> (Fallén, 1826)	1	0,18	0	0	0	0	23	2,13	7	1,82	3	0,37	34	0,98
			<i>Metadelphax propinquus</i> (Fieber, 1866)	1	0,18	0	0	0	0	8	0,74	11	2,86	0	0	20	0,58
			<i>Paraliburnia clypealis</i> (Sahlberg, 1871)	0	0	0	0	0	0	1	0,09	0	0	1	0,12	2	0,06
			<i>Unkanodes excisa</i> (Melichar, 1898)	2	0,37	2	0,57	5	1,68	90	8,33	38	9,87	113	13,97	250	7,22
	Dictyopharidae		<i>Almana longipes</i> (Dufour, 1849)	0	0	0	0	1	0,34	9	0,83	2	0,52	0	0	12	0,35
			<i>Bursinia genei</i> (Dufour, 1849)	0	0	0	0	0	0	8	0,74	0	0	0	0	8	0,23
			<i>Bursinia parvula</i> Horváth, 1910	0	0	0	0	0	0	2	0,19	2	0,52	0	0	4	0,12
	Issidae		<i>Agalmatium bilobum</i> (Fieber, 1877)	3	0,55	0	0	0	0	10	0,93	1	0,26	0	0	14	0,40
			<i>Fieberium impressum</i> (Fieber, 1877)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,26	0	0	1	0,03

Infraordem	Família	Subfamília	Espécie	Copa						Coberto Vegetal						Total Geral	
				julho		setembro		outubro		julho		setembro		outubro			
	Tettigometridae		<i>Tettigometra impressopunctata</i> Dufour, 1846	1	0,18	0	0	0	0	1	0,09	1	0,26	0	0	3	0,09
			<i>Tettigometra</i> sp1	0	0	0	0	0	0	1	0,09	0	0	0	0	1	0,03
			<i>Tettigometra</i> sp2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,12	1	0,03
			<i>Tettigometra</i> sp3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0,37	3	0,09
			<i>Tettigometra</i> sp4	0	0	1	0,29	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,03
			<i>Tettigometra</i> sp5	1	0,18	1	0,29	0	0	0	0	0	0	1	0,12	3	0,09
Total Geral				542		349		297		1081		385		809		3463	

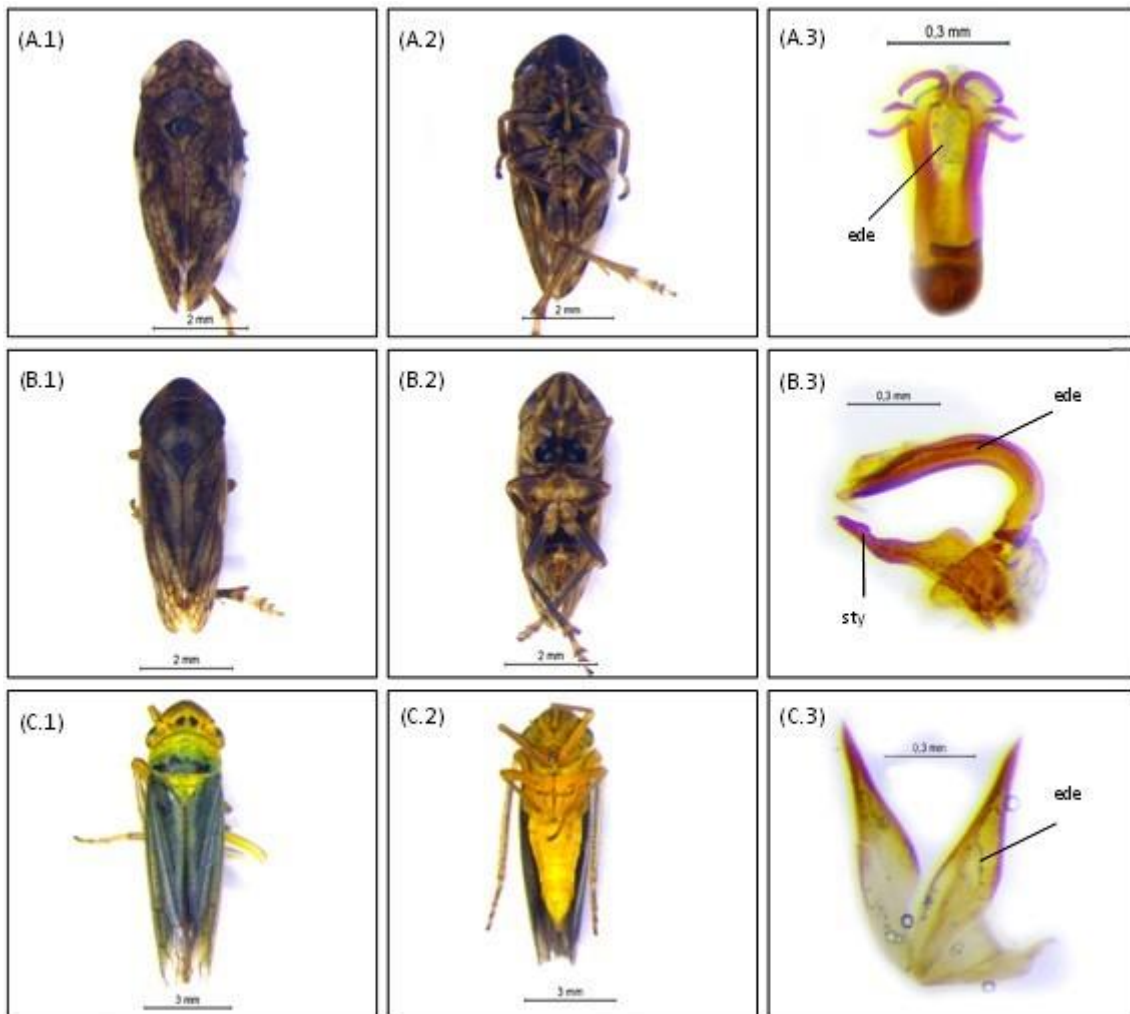


Figura 13. Vetores de *Xylella fastidiosa*. (A) *Philaenus spumarius*; (B) *Neophilaenus campestris*; (C) *Cicadella viridis*. (1) Vista dorsal; (2) vista frontal; (3) genitália masculina (ede= edeago; sty=style).

No que diz respeito a riqueza média e à diversidade de espécies, observou-se a existência de diferenças significativas entre estratos e data de amostragem (Quadro 4).

No geral, o coberto vegetal foi o estrato que apresentou a maior riqueza média e diversidade de espécies em todas as datas de amostragem. Contudo, foi na amostragem de julho que se verificou uma maior riqueza e diversidade de espécies. Por sua vez, em setembro foi onde se verificou uma menor riqueza média e diversidade de indivíduos de Auchenorrhyncha tanto no coberto vegetal como na copa das videiras (Quadro 4).

O Índice de Diversidade Shannon Wiener ( $H'$ ), apresentou sempre índices inferiores a dois, o que é indicativo de uma baixa diversidade em espécies de Auchenorrhyncha.

O Índice de Equitabilidade de Pielou ( $J'$ ) indica que o coberto vegetal possui uma uniformidade de espécies significativamente superior ( $p < 0,001$ ) de Auchenorrhyncha do que a copa das videiras. Porém tanto no coberto vegetal como na copa das videiras esta uniformidade variou significativamente ( $p < 0,001$ ) entre os períodos amostrados. E na amostragem realizada em julho foi onde se verificou uma maior uniformidade de espécies seguindo-se outubro e por fim setembro.

Quadro 4. Índices de diversidade de Auchenorrhyncha, para cada data e estrato amostrado. Riqueza média amostrada, Índice de Diversidade Shannon Wiener ( $H'$ ), Índice de Equitabilidade de Pielou ( $J'$ ). Letras iguais não são significativamente diferentes para  $P < 0,05$  (teste de Tukey)

		julho	setembro	outubro	p-value
<b>Riqueza</b>	Copa	1,72a	0,65c	1,27b	<0,001
	Coberto vegetal	5,08a	2,66c	4,03b	<0,001
	p-value	<0,001	<0,001	<0,001	
<b>H'</b>	Copa	0,47a	0,18c	0,36b	<0,001
	Coberto vegetal	1,13a	0,73c	0,97b	<0,001
	p-value	<0,001	<0,001	<0,001	
<b>J'</b>	Copa	0,39a	0,10b	0,29a	<0,001
	Coberto vegetal	0,73a	0,58b	0,68ab	0,001
	p-value	<0,001	<0,001	<0,001	

#### 4.2. Diferenças entre as comunidades de Auchenorrhyncha

Segundo a análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) não existem diferenças significativas na comunidade de Auchenorrhyncha entre as diferentes vinhas amostradas ( $df = 9$ ;  $F=1,46$ ;  $p=0,185$ ) (Figura 14). E de acordo com o teste de permutação para homogeneidade a variância de espécies nas diferentes vinhas foi homogênea ( $df = 9$ ;  $F=1,08$ ;  $p=0,38$ ).

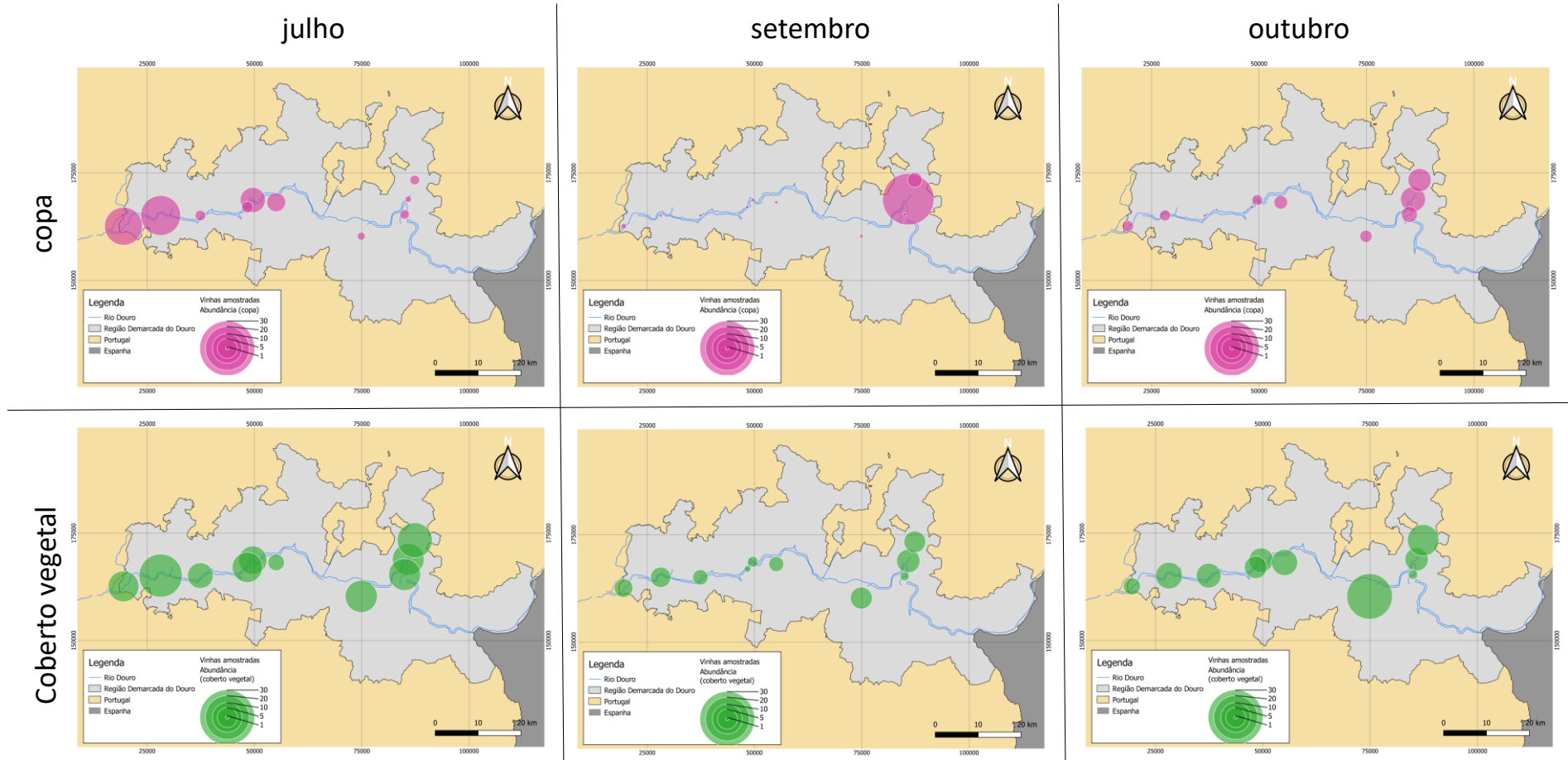


Figura 14. Distribuição da abundância média dos adultos de Auchenorrhyncha nos meses de julho, setembro e outubro de 2019 na copa da videira e no coberto vegetal nas diferentes vinhas amostradas na Região Demarcada do Douro. Mapas projetados em ETRS89/PT-TM06

A análise de PERMANOVA (Quadro 5) e a análise de escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) (Figura 15), com base no índice de Bray-Curtis, mostram que a composição da comunidade de adultos de Auchenorrhyncha diferiu significativamente entre a copa e o coberto vegetal (Figura 15A). E de acordo com o teste de permutação para homogeneidade, a variância de espécies nos estratos foi homogênea ( $df = 1$ ;  $F=1,52$ ;  $p = 0,22$ ), validando assim os resultados obtidos pela PERMANOVA.

Relativamente às datas amostradas, apesar de a PERMANOVA indicar que a variável data tem influência na comunidade de Auchenorrhyncha, a análise NMDS (Figura 15B) e a análise por pares, com correção de Bonferroni, mostraram que esta variável não exerce esse efeito sobre a comunidade (todos os  $p > 0,072$ ). Estas diferenças encontradas pelo PERMANOVA podem ser devido à heterogeneidade dos dados e não por diferenças na comunidade uma vez que o teste de permutação para homogeneidade indica que existe heterogeneidade nos dados ( $df = 2$ ;  $F=4,51$ ;  $p=0,01$ ).

O teste Tukey HSD mostrou que as diferenças se devem a uma maior distância ao centroide nas espécies recolhidas em setembro. Quando há interação das variáveis estrato e datas de amostragem, a análise de PERMANOVA, mostrou que esta interação origina diferenças com significado estatístico na comunidade de Auchenorrhyncha (Figura 15B).

A comparação por pares mostrou que as diferenças observadas pela PERMANOVA são devidas essencialmente a diferenças na comunidade de Auchenorrhyncha recolhidos no coberto vegetal e na copa das videiras nas três datas amostradas, com exceção da comunidade de Auchenorrhyncha recolhida no coberto vegetal em setembro que não diferiu da comunidade de Auchenorrhyncha recolhida na copa em julho e setembro.

O teste de permutação para homogeneidade, validou os resultados da PERMANOVA, uma vez que a variância entre espécies de Auchenorrhyncha para a interação entre estratos e datas amostradas foi homogênea ( $df = 5$ ;  $F= 0,85$ ;  $p=0,52$ ).

Quadro 5. Diferenças entre as comunidades de Auchenorrhyncha por estrato e datas de amostragem de acordo com a análise PERMANOVA das espécies de Auchenorrhyncha. df - graus de liberdade; SS - soma dos quadrados

Variavel	df	SS	R <sup>2</sup>	F	p
Estrato	1	3.649	0.184	14.607	0.001
Data	2	1.618	0.081	3.238	0.001
Estrato:Data	2	1.120	0.056	2.242	0.004
Residual	54	13.490	0.679		
Total	59	19.877	1.000		

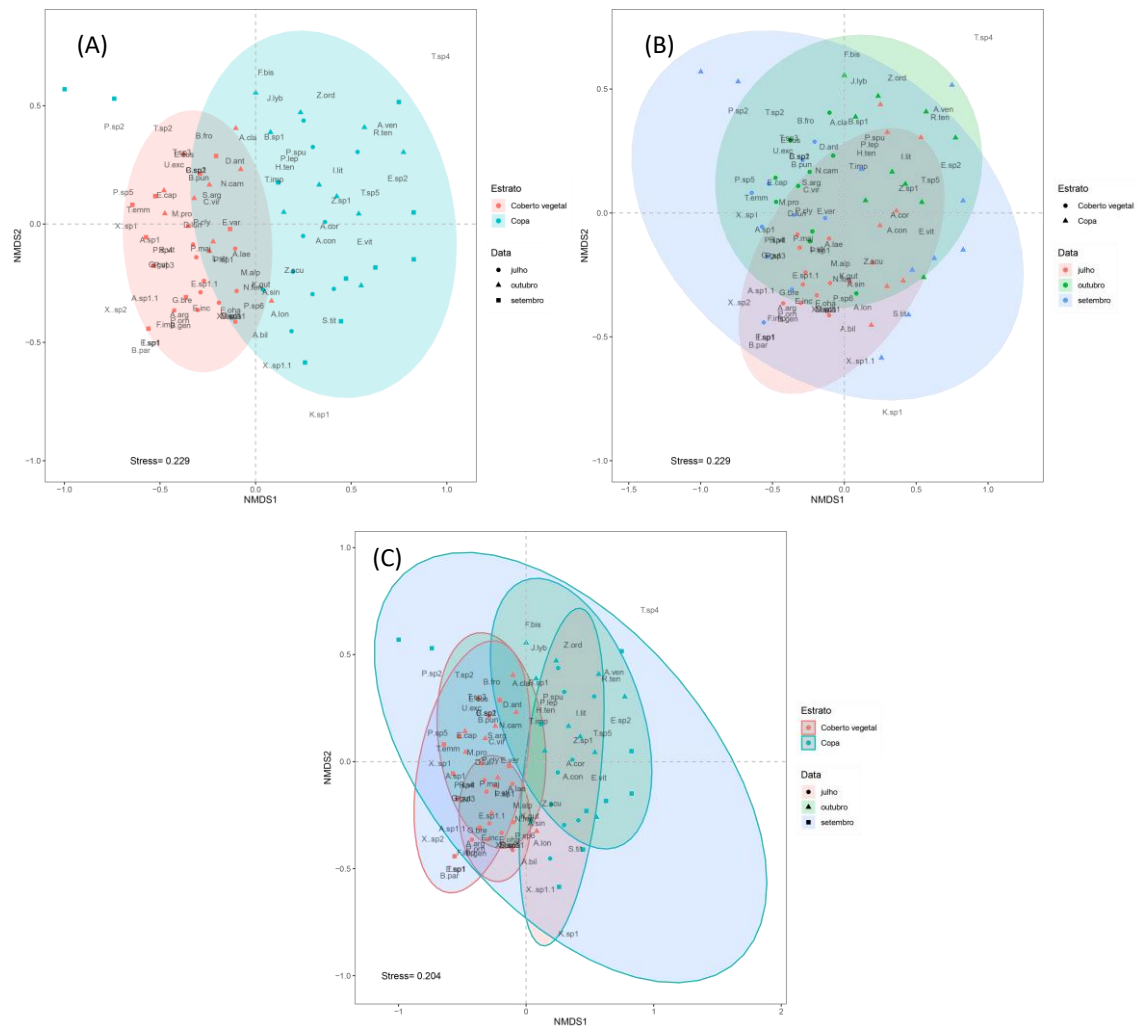


Figura 15. Análise de escalonamento multidimensional não métrica (NMDS) para a abundância de Auchenorrhyncha no (A) estrato (copa e coberto vegetal), nas (B) datas amostradas (junho, setembro e outubro) e (C) interação entre os estratos e as datas amostradas.

### 4.3. Esforço de amostragem

As curvas de acumulação de espécies obtidas com os resultados da amostragem de setembro e outubro para a copa das videiras apresentaram uma estabilização indicando à posteriori que o esforço de amostragem, foi suficiente para detetar grande parte da comunidade de Auchenorrhyncha na copa das vinhas amostradas, o mesmo não se verificou com os resultados da amostragem de julho, não tendo ocorrido estabilização da curva (Figura 16A).

Nenhuma das curvas de acumulação de espécies do coberto vegetal mostraram uma tendência assintótica (Figura 16B), indicando que o esforço de amostragem, provavelmente, foi insuficiente para detectar a maioria das espécies da comunidade de Auchenorrhyncha presentes no coberto vegetal das vinhas amostradas, sugerindo que seria necessário aumentar o esforço de amostragem.

Tal como referido anteriormente o coberto vegetal apresentou uma maior riqueza de espécies em relação à copa. Na amostragem de julho foi onde se observou a maior riqueza e em setembro e onde se verifica a menor tanto no coberto vegetal como na copa das videiras amostradas.

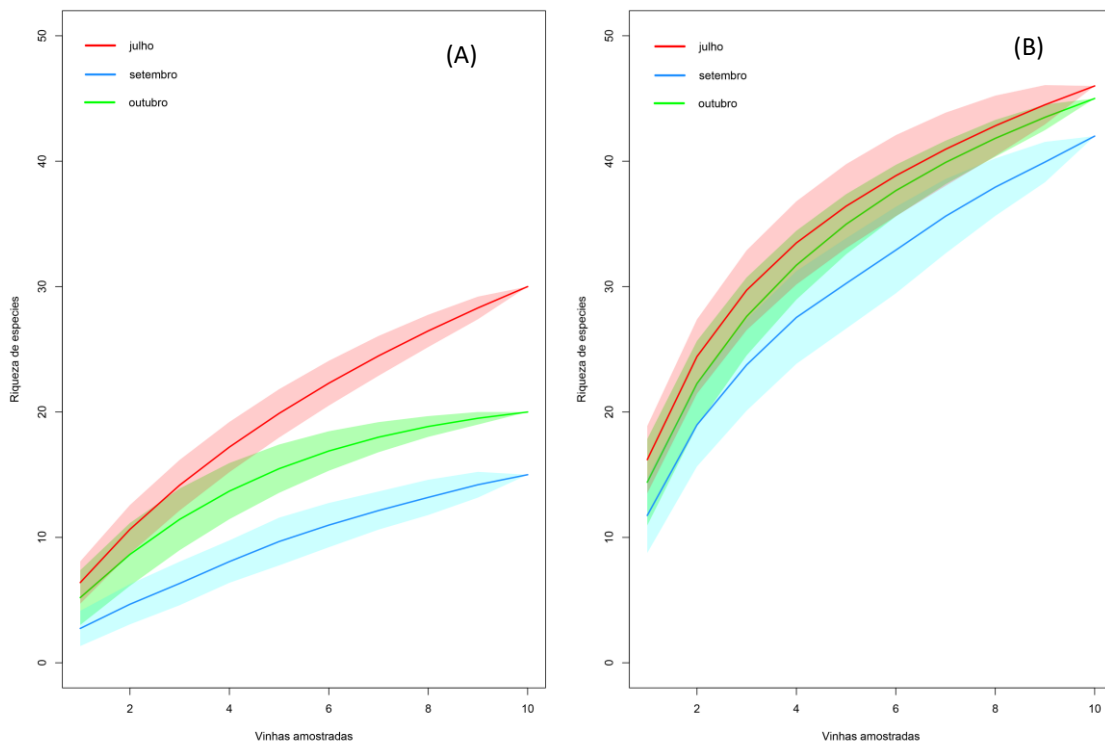


Figura 16. Curvas de acumulação de espécies com base na quantidade de vinhas amostradas para a (A) copa das videiras, e para o (B) e no coberto vegetal em julho, setembro e outubro. Os envelopes correspondem ao intervalo de confiança 95%.



# Capítulo 5.

Discussão

## 5. Discussão

A identificação de potenciais vetores de *X. fastidiosa* tem sido intensamente explorada em olivais por toda a Europa (Antonatos et al., 2020; Panzavolta et al., 2019; Elbeaino et al., 2014; Morente et al., 2018; Tsagkarakis et al., 2018), por ter sido neste agroecossistema onde apareceu o primeiro foco da doença. A ocorrência de vetores e potenciais vetores em outros agrossistemas não se tem observado. Visto que a bactéria *X. fastidiosa* ataca um grande número de espécies vegetais, entre as quais a videira, onde causa doenças importantes, o estudo da presença de potências vetores de *X. fastidiosa* e a restante comunidade adulta de Auchenorrhyncha é um primeiro passo para prevenir a doença ou minimizar o seu potencial efeito. Neste sentido, o presente trabalho dedica-se ao estudo da comunidade de vetores e potenciais vetores na copa da videira e no coberto vegetal espontâneo, em diferentes períodos de amostragem, em vinhas da Região Demarcada do Douro, considerada a mais importante das regiões vinícolas portuguesas.

### 5.1. Potenciais vetores de *X. fastidiosa*

Na Europa, todos os insetos que se alimentam exclusivamente de xilema são considerados potenciais vetores de *X. fastidiosa* (Cornara et al., 2019) porém nas vinhas amostradas apenas foram recolhidas três espécies especialistas em xilema nomeadamente, *P. spumarius*, *N. campestris* e *C. viridis*. Espécies como *Aphrophora* sp., *Lepyronia coleoptrata* (Linnaeus, 1758), *Cercopis intermedia* Kirschbaum 1868, *Neophilaenus lineatus* (Linnaeus, 1758) e *Philaenus tessellatus* Melichar, 1899 encontradas em sistemas agrícolas Portugueses (Guerreiro, 2020; Nascimento, 2020; Neto, 2019; Popova, 2020) e também consideradas potenciais vetores deste patógeno (Cornara et al., 2019), não foram identificadas nas vinhas amostradas.

Espécies do género *Philaenus* e *Neophilaenus* foram descritas por Cavaleri et al. (2019), como vetores eficientes de *X. fastidiosa*. De facto, *P. spumarius* é considerado o principal vetor europeu da bactéria, não só pela elevada taxa de eficiência de transmissão em comparação com outros vetores, (Cavaleri et al., 2019) mas também, pela sua grande dispersão e abundância pela Europa (Rodrigues et al., 2014). Relativamente a *C. viridis*, estudos preliminares realizados por Bodino et al. (2019), mostraram que este cicadelideo é também capaz de adquirir e transmitir a bactéria, porém com uma taxa de eficiência baixa.

*Neophilaenus campestris*, foi o vetor mais abundante nas vinhas amostradas, representando 61% dos vetores identificados, resultados que não são concordantes com a maioria dos estudos efetuados em olivais europeus nos quais *P. spumarius* é descrito como o vetor mais abundante (Antonatos et al., 2020; Elbeaino et al., 2014; Morente et al., 2018; Tsagkarakis et al., 2018). Este fato estará relacionado com uma maior apetência de *P. spumarius* pela oliveira que pela vinha, o que vai de encontro ao reportado por Santoiemma et al. (2019), que constataram que uma proporção elevada de vinhas na paisagem afeta negativamente a ocorrência e abundância de *P. spumarius*. Este aspeto poderá estar relacionado com o maior número de tratamentos fitossanitários realizados na vinha ao longo do ano, e também a uma paisagem menos diversa em regiões onde a viticultura é a atividade principal, o que reduz a possibilidade de refúgios limitando assim a ocorrência de *P. spumarius*.

Alguns trabalhos, realizados em olival na Espanha, Portugal, Córsega e Grécia, indicam que indivíduos de *P. spumarius* e *N. campestris* tendem a migrar dos olivais no verão, período em que o coberto vegetal morre ou é cortado, para outras áreas em que tenham vegetação disponível. Com o aproximar do outono, após as primeiras chuvas, tendem a retomar para o olival quando há a rebrota do coberto vegetal onde fazem as posturas (Antonatos et al., 2020; Cruaud et al., 2018; Morente et al., 2018;). No presente trabalho, as três espécies de vetores apresentaram uma maior frequência em outubro o que indica um padrão comportamental nas vinhas semelhante ao verificado no olival.

Todos os vetores recolhidos apresentaram uma maior frequência no coberto vegetal o que vai de encontro com a bibliografia (Antonatos et al., 2020; Carpio et al., 2020; Elbeaino et al., 2014; Morente et al., 2018; Tsagkarakis et al., 2018). De facto, a análise de coenergia (Figura 17) demonstrou que os vetores amostrados apresentam uma correlação positiva com o coberto vegetal. Segundo Bodino et al. (2019) e Morente et al. (2018), as cigarrinhas das espumas passam grande parte do seu ciclo de vida no coberto vegetal, principalmente em gramíneas, onde se alimentam, acasalam e efetuam as posturas. Contudo, é de realçar que no presente trabalho tanto *P. spumarius* como *N. campestris* foram registados na copa das videiras. Os resultados indicam que abundância e diversidade de vetores observados no presente trabalho é relativamente baixa quando comparada com outros estudos similares (Ben Moussa et al., 2016; Bodino et al., 2019; Morente et al., 2018; Tsagkarakis et al., 2018; Zhang et al., 2011). Como anteriormente referido pode dever-se ao facto de as vinhas sofrerem uma maior pressão de tratamentos fitossanitários ao longo do seu ciclo vegetativo, especialmente

tratamentos inseticidas obrigatórios contra a cigarrinha da flavescência dourada (SNAA, 2020).

No entanto, estamos em crer que a baixa abundância de vetores nas vinhas da Região Demarcada do Douro não indica que o risco de disseminação de *X. fastidiosa* nas vinhas da região seja reduzido, caso haja introdução do patógeno. Como referido na parte de revisão deste trabalho, nos vetores após a aquisição da bactéria, esta persiste no aparelho bucal durante toda a vida do inseto (Sicard et al., 2018), e uma vez que a bactéria não necessita de um período latente pode ser transmitida logo após a aquisição (Janse & Obradovic, 2010). Estes aspetos ligados ao facto de os vetores terem características migratórias (Bodino et al., 2021; Lago et al., 2021), sugerem que um único indivíduo pode transmitir a bactéria a várias plantas durante o seu ciclo de vida. Como atualmente ainda não existe cura para as doenças causadas pela *X. fastidiosa*, a principal forma de limitar a disseminação da bactéria passa pelo conhecimento dos vetores, a sua monitorização e em certos casos pela implementação de ações que visem a sua redução ou eliminação.

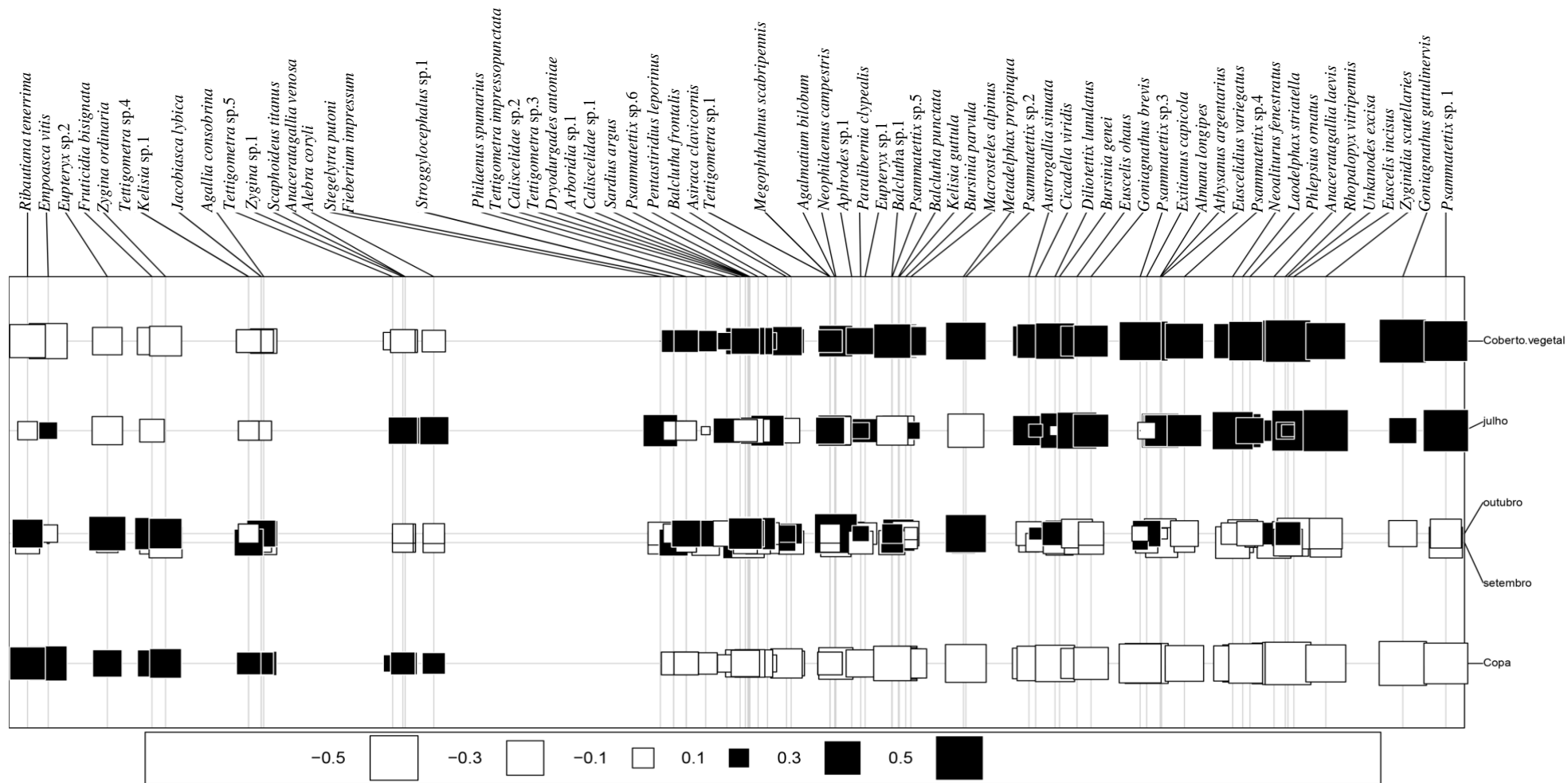


Figura 17 Mapa fatorial de co-inércia. Os quadrados pretos representam relacionamentos positivos e os quadrados brancos relacionamentos negativos. Os tamanhos quadrados são proporcionais à magnitude da correlação.

## 5.2. Remanescente comunidade de Auchenorrhyncha

Além de alguns indivíduos da subordem Auchenorrhyncha serem considerados potenciais vetores de *X. fastidiosa*, outras espécies desta subordem também podem danificar fisicamente as plantas no seu processo alimentar, sendo-lhes atribuído a designação de pragas (Heinrichs & Barrion, 2004; Backus et al., 2005; Atakan, 2009; Cryan & Svenson, 2010) e ainda serem vetores de outros patógenos importantes (Nielson, 1968; Redak et al., 2004). Pelo que, o conhecimento e identificação destes indivíduos, nos agrossistemas portugueses é igualmente importante.

Dentro da comunidade de Auchenorrhyncha, foram identificadas nas vinhas amostradas algumas espécies que podem causar estragos/prejuízos e que podem levar a perdas económicas. *E. vitis* e *J. lybica*, conhecidas vulgarmente por cigarrinhas verdes, adquiriram, na última década a designação de praga-chave em algumas regiões vitícolas portuguesas, nomeadamente no Alentejo e no Douro (Lima, 2012). De acordo com a bibliografia *J. lybica* tem uma maior dispersão na região sul de Portugal (Félix & Cavaco, 2009) uma vez que temperaturas mais elevadas favorecem um maior número de gerações anuais, com ocorrência de diferentes gerações sobrepostas (Hosny & El-Dessouki, 1967), o que não se verifica no norte de Portugal devido às baixas temperaturas, justificando assim a baixa abundância destes indivíduos nas vinhas durienses. Já *E. vitis* tem uma capacidade de adaptação mais ampla, podendo ser encontrada por toda a Europa, Escandinávia, África Setentrional, Ásia e América do Norte (Mosna, 2005) sendo a mais abundante na RDD. Outras cigarrinhas verdes como *Empoasca solani* (Curtis, 1846) e *Empoasca decipiens* (Paoli, 1930) também associadas aos estragos na vinha (Rebelo, 1993) não foram registadas nas vinhas em estudo.

É de salientar que algumas das espécies recolhidas nas vinhas amostradas são consideradas vetores ou potenciais vetores de fitoplasmas responsáveis por estragos prejudiciais na videira. Entre estas cabe destacar *S. titanus*. Este cicadelideo é considerado o principal vetor do fitoplasma da flavescência dourada (Chuche and Thiéry, 2014). Estudos conduzidos com *Euscelidius variegatus*, um vetor confirmado do fitoplasma *Candidatus phytoplasma asteris*, demonstraram que este cicadelideo é também capaz de adquirir e transmitir o fitoplasma da flavescência dourada em condições de laboratório (Picciau et al., 2020). *Neoliturus fenestratus* (Herrich-Shaffer) é um dos vetores dos fitoplasmas *Candidatus Phytoplasma solani* e *Candidatus Phytoplasma asteris* (Landi et al., 2013). *Laodelphax striatella* (Fallén), *Anaceratagallia laevis* (Ribaut) e *Austroagallia*

*sinuata* (Mulsant & Rey) também foram estabelecidas como vetores dos fitoplasmas das doenças amarelas da videira (Mori, 2018). E o principal vetor de *X. fastidiosa*, *P. spumarius*, também testou positivo para o fitoplasma *Candidatus phytoplasma solani* (Quaglino et al., 2019)

Foi observada uma grande abundância, riqueza e diversidade de indivíduos de Auchenorrhyncha no coberto vegetal. De facto, a análise de co-inércia mostrou que grande parte dos indivíduos capturados apresentaram uma correlação positiva com o coberto vegetal, sendo que apenas 14 espécies apresentaram uma correlação positiva com a copa da videira (Figura 16). Dados concordantes com a análise de PERMANOVA e NMDS mostraram existir diferenças entre as comunidades dos estratos amostrados. Um estudo realizado por Carpio et al. (2020), cujo objetivo foi entender o papel do coberto vegetal na estruturação da comunidade de Cicadomorpha, mostrou que olivais com coberto vegetal apresentaram uma maior diversidade e abundância de Cicadomorpha em comparação com olivais sem coberto vegetal. Outros estudos também salientam a importância do coberto vegetal na estruturação da comunidade de Auchenorrhyncha (McClure, 1982; Altieri et al., 1985; Masters et al., 1998; Körösi et al., 2012; Helbing et al., 2017). Grande parte dos indivíduos recolhidos possuem hábitos alimentares polípagos tornando-se o coberto vegetal mais apelativo à comunidade de Auchenorrhyncha (Carpio et al., 2020). O coberto vegetal fornece uma vasta gama de fontes de alimento, abrigo e local para o acasalamento e substrato para a realização das posturas (Abad et al., 2021). Porém a mobilização do solo, e o corte do coberto vegetal não são apontados como solução para reduzir os níveis populacionais de Auchenorrhyncha nos agroecossistemas. Pois, o coberto vegetal fornece também abrigo e alimento a um vasto conjunto de fauna auxiliar que exercem serviços ecossistémicos fundamentais na vinha como polinização, decomposição, regulação do ciclo de nutrientes e controlo de pragas e doenças. Na prática, a implementação de infraestruturas ecológicas como a conservação do coberto vegetal na entrelinha, a sementeira/plantação de espécies herbáceas, arbustivas e arbóreas na bordadura das parcelas e a instalação de corredores ecológicos para o fomento destes organismos benéficos torna-se essencial para a manutenção dos níveis populacionais dos indivíduos da subordem Auchenorrhyncha e outros indivíduos que possam ser prejudiciais (Franco, 2010).

Relativamente às datas de amostragem, a grande abundância e diversidade observada na amostragem de julho vai de acordo com a bibliografia existente (Brown et al., 1992; Carpio et al., 2020). No início do outono, a ocorrência de precipitação promove a rebrota das plantas do coberto vegetal proporcionando novos e adequados habitats para os

insetos. Este fator associado ao distúrbio causado pela vindima pode justificar a baixa abundância e diversidade de indivíduos na amostragem de setembro. Em outubro, inicia-se a senescência das folhas e a videira começa a entrar em repouso vegetativo fazendo com que a copa não seja apelativa para insetos fitófagos o que pode justificar a baixa abundância de indivíduos de *Auchenorrhyncha* na copa das videiras na amostragem de outubro.



# Capítulo 6.

Conclusão e perspectivas futuras

## Conclusão e perspectivas futuras

O primeiro passo para implementação de medidas de controlo contra pragas e insetos vetores é conhecer a sua abundância e diversidade nos ecossistemas agrários. O presente trabalho permitiu identificar a comunidade de Auchenorrhyncha presente nas vinhas durienses, assim como entender a sua preferência perante diferentes estratos.

No presente trabalho foram recolhidos e identificados nas vinhas amostradas vetores de *X. fastidiosa* e vetores de fitoplasmas das doenças amarelas da videira, apesar de estes apresentarem uma baixa abundância, a sua presença na região demarcada (RDD) mais antiga do mundo não deixa de ser alarmante.

*Philaenus spumarius*, considerado o principal vetor de *X. fastidiosa* na Europa, apresentou uma baixa abundância nas vinhas, apesar de ter estado presente nos dois estratos amostrados. Por sua vez *N. campestris* foi o vetor mais abundante.

O coberto vegetal apresentou ser um importante refúgio para os indivíduos de Auchenorrhyncha, mas o corte do mesmo não se encontra como solução para reduzir o número populacional. Foi possível detetar um grande número de espécies presentes nas vinhas, mas a amostragem efetuada exibiu não ser suficiente para catalogar toda a diversidade presente, principalmente no coberto vegetal.

Pressupõem-se que antes da implementação de qualquer medida de controlo é essencial compreender as principais razões do incremento da abundância das pragas. Para tal, em trabalhos futuros é essencial estudar a forma como a paisagem, os modos de produção, a aplicação de tratamentos fitossanitários, a casta presente no local de amostragem, as condições ambientais e outros fatores moldam a comunidade de Auchenorrhyncha. Aprofundar os estudos da sazonalidade e ecologia destes indivíduos é também da maior importância assim como estudo da interação entre predadores generalistas presentes na vinha e a comunidade de Auchenorrhyncha. Outros aspetos como o compreender quais as plantas do coberto vegetal que influenciam a comunidade Auchenorrhyncha é também necessário, na medida em que vão permitir desenhar cobertos vegetais menos apelativos para insetos desta subordem. Estes estudos poderão contribuir para implementação de medidas de controlo mais sustentáveis em detrimento de medidas com recurso a produtos fitofarmacêuticos.



## Bibliografia.

## Bibliografia

- Abad, J., Hermoso, De Mendoza I., Marín, D., Orcaray, L. & Santesteban, L. G. (2021). Cover crops in viticulture. A systematic review (1): Implications on soil characteristics and biodiversity in vineyard. *Oeno One*, 55, 295-312. Doi: 10.20870/OENO-ONE.2021.55.1.3599
- Agrios, G. N. (2005). Plant diseases caused by prokaryotes: bacteria and mollicutes. *Plant Pathology*, 615-703. Doi:10.1016/b978-0-08-047378-9.50018-x
- Agro.Ges. (2012). *Plano Estratégico para a internacionalização do sector dos vinhos de Portugal*. ViniPortugal. Disponível em:
- Alexandrovich Dmitriev, D., & Nickel, H. (2006). The Leafhoppers and Planthoppers of Germany (Hemiptera, Auchenorrhyncha): Patterns and Strategies in a Highly Diverse Group of Phytophagous Insects, *Annals of the Entomological Society of America*. Doi:10.1603/0013-8746(2006)099[0187:tlapog]2.0.co;2
- Almeida, R. P., & Nunney, L. (2015). How Do Plant Diseases Caused by *Xylella fastidiosa* Emerge? *Plant Disease*, 99(11), 1457-1467. Doi:10.1094/pdis-02-15-0159-fe
- Almeida, R. P. P., Blua, M. J., Lopes, J. R. S., & Purcell, A. H. (2005). Vector transmission of *Xylella fastidiosa*: Applying fundamental knowledge to generate disease management strategies. *Entomological Society of America*, 98, 775-786. Doi:10.1603/0013-8746(2005)098[0775:vtoxfa]2.0.co;2
- Almeida, R. P. (2016). Can Apulia's olive trees be saved?. *Science*, 353(6297), 346-348.
- Altieri, M. A., Wilson, R. C. & Schmidt, L. L. (1985). The effects of living mulches and weed cover on the dynamics of foliage-and soil-arthropod communities in three crop systems. *Crop Protect*, 4, 201-213. Obtido de [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(85\)90018-3](https://doi.org/10.1016/0261-2194(85)90018-3)
- Amaro, P. (2004). A protecção integrada da vinha: Colóquio. Lisboa: ISAPress, 128 p.
- Anderson, P. K., Cunningham, A. A., Patel, N. G., Morales, F. J., Epstein, P. R. & Daszak, P. (2004). Emerging infectious diseases of plants: pathogen pollution, climate change and agrotechnology drivers. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(10), 535-544. Doi: 10.1016/j.tree.2004.07.021 PMID: 16701319
- Antonatos, S., Papachristos, D. P., Kapantaidaki, D. E., Lytra, I. C., Varikou, K., Evangelou, V. I., & Milonas, P. (2020). Presence of Cicadomorpha in olive orchards of Greece with special reference to *Xylella fastidiosa* vectors. *Journal of Applied Entomology*, 144,1-11. Doi: 10.1111/jen.12695
- Appel, D., Black, M., Labay, A., Lewis, J., Kamas, J., & Morano, L. (s.d.) Pierce's Disease Overview & Management Guide A Resource for Grape Growers in Texas and Other Eastern Contents 103.

- Aryan, A., Brader, G., Mörtel, J., Pastar, M. & Riedle-Bauer, M. (2014). An abundant “*Candidatus Phytoplasma solani*” tuf b strain is associated with grapevine, stinging nettle and *Hyalesthes obsoletus*. *European Journal of Plant Pathology*, 140, 213-227. Doi: 10.1007/s10658-014-0455-0
- Atakan, E. (2009). Damage assessment of the leafhopper complex [*Asymmetrasca decedens* (Paoli) and *Empoasca decipiens* Paoli] (Homoptera: Cicadellidae) in cotton. *Journal of Pest Science*, 82, 227-234. Doi: 10.1007/s10340-008-0243-8
- Backus, E. A., Andrews, K. B., Shugart, H. J., Greve, L. C., Labavitch, J. M., & Alhaddad, H. (2012). Salivary enzymes are injected into xylem by the glassy-winged sharpshooter, a vector of *Xylella fastidiosa*. *Journal of Insect Physiology*, 58(7), 949-959. Doi:10.1016/j.jinsphys.2012.04.011
- Backus, E. A., Serrano, M. S., & Ranger, C. M. (2005) Mechanisms of Hopperburn: An Overview of Insect Taxonomy, Behavior, and Physiology. *Annual Review of Entomology*, 50, 125-151. Doi: 10.1146/annurev.ento.49.061802.123310
- Ben Moussa, I. E., Mazzoni, V., Valentini, F., Yaseen, T., Lorusso, D., Speranza, S., Digiario, M., Varvaro, L., Krugner, R., & D’Onghia, A. M. (2016). Seasonal fluctuations of sap-feeding insect species infected by *Xylella fastidiosa* in Apulian olive groves of southern Italy. *Journal of Economic Entomology*, 109, 1512–1518. Doi: 10.1093/jee/tow123
- Biedermann, R. & Niedringhaus, R. (2009). The Plant- and Leafhoppers of Germany: Identification key to all species. Germany: WABV
- Bodino N, Cavalieri V, Dongiovanni C, Altamura G, Saladini MA, Saponari M, & Bosco D. (2019). Transmission characteristics of *Xylella fastidiosa subsp. pauca* (ST53) by *Philaenus spumarius* and *Cicadella viridis*. In *2nd European Conference on Xylella fastidiosa 2019*, 29-30 October, Ajaccio, France. Book of abstracts. Zenodo. Doi:10.5281/zenodo.3548424
- Bodino, N., Cavalieri, V., Dongiovanni, C., Simonetto, A., Saladini, M.A., Plazio, E., & Bosco, D. (2021). Dispersal of *Philaenus spumarius* (Hemiptera: Aphrophoridae), a Vector of *Xylella fastidiosa*, in Olive Grove and Meadow Agroecosystems. *Environmental Entomology*, 50, 267-279. Doi:10.1093/ee/nvaa140
- Brown, V. K., Gibson, C. W. D. & Kathirithamby, J. (1992). Community organisation in leaf hoppers. *Oikos*, 65, 97-106. Doi:10.2307/3544891
- Bucci, E. M. (2018). *Xylella fastidiosa*, a new plant pathogen that threatens global farming: Ecology, molecular biology, search for remedies. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 502(2), 173-182. Doi:10.1016/j.bbrc.2018.05.073
- Carpio, A. J., Solana, M., Tortosa, F. S. & Castro, J. (2020). Effect of cover crops in olive groves on cicadomorpha communities. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 18, 1-13. Doi:10.5424/sjar/2020182-15991

- Caudwell, A. (1981) La flavescence dorée de la vigne en France. *Phytoma- la Défense des cultures*. Février. 16-19.
- Cavaleri, V., Altamura, G., Fumarola, G., di Carolo, M., Saponari, M., Cornara, D., ... Dongiovanni, C. (2019). Transmission of *Xylella fastidiosa* Subspecies Pauca Sequence Type 53 by Different Insect Species. *Insects*, 10(10), 324. Doi:10.3390/insects10100324
- Charters, S. (2008). *Wine and society: The social and cultural context of a drink*. Elsevier/Butterworth-Heinemann. ISBN-13: 978 0 7506 6635 0
- Chu, H. Y. & Teng, K. F. (1950). Life history of the leafhopper, *Cicadella viridis* L. Homoptera: Cicadellidae. *Acta Entomologica Sinica*, 1(1), 14-40.
- Chuche, J. & Thiéry, D. (2014). Biology and ecology of the Flavescence dorée vector *Scaphoideus titanus*: A review. *Agronomy for Sustainable Development* 34, 381-403. Doi:10.1007/s13593-014-0208-7
- Chuche, J., Sauvion, N., & Thiéry, D. (2017). Mixed xylem and phloem sap ingestion in sheath-feeders as normal dietary behavior: Evidence from the leafhopper *Scaphoideus titanus*. *Journal of Insect Physiology*, 102, 62-72. Doi: 10.1016/j.jinsphys.2017.01.014
- Cornara, D., Marra, M., Tedone, B., Cavaleri, V., Porcelli, F., Ferere, A., Purcell, A. & Saponari, M. (2020). No evidence for cicadas' implication in *Xylella fastidiosa* epidemiology. *Entomologia Generalis*, 40(2), 125-132.
- Cornara, D., Morente, M., Markheiser, A., Bodino, N., Tsai, C. W., Fereres, A., Redak, R.A., Perring, T. M. & Lopes J. R. S. (2019). An overview on the worldwide vectors of *Xylella fastidiosa*. *Entomologia Generalis*, 39, 157-181. Doi:10.1127/entomologia/2019/0811
- Cornara, D., Saponari, M., Zeilinger, A. R., de Stradis, A., Boscia, D., Loconsole, G., Bosco, D., Martelli, G. P., Almeida, R., & Porcelli, F. (2017). Spittlebugs as vectors of *Xylella fastidiosa* in olive orchards in Italy. *Journal of Pest Science*, 90(2), 521-530. Doi:10.1007/s10340-016-0793-0
- Creasy, G. & Creasy, L. (2009). *Grapes: Crop Production Science in Horticulture, Vol. 16*. Wallingford: CABI. ISBN-13: 978 1 84593 401 9
- Cruaud, A., Gonzalez, A. A., Godefroid, M., Nidelet, S., Streito, J. C., Thuillier, J. M., Rossi J. P., Sabtibu S., & Rasplus, J. Y. (2018). Using insects to detect, monitor and predict the distribution of *Xylella fastidiosa* a case study in Corsica. *Scientific reports*, 8(1), 15628. Doi: 10.1038/s41598-018-33957-z
- Cryan, J. R. & Svenson, G. J. (2010). Family-level relationships of the spittlebugs and froghoppers (Hemiptera: Cicadomorpha: Cercopoidea). *Systematic Entomology*, 35, 393-415. Doi: 10.1111/j.1365-3113.2009.00520.x

- Cvrković, T., Jović, J., Mitrović, M., Krstić, O. & Toševski, I. (2014). Experimental and molecular evidence of *Reptalus panzeri* as a natural vector of Bois noir. *Plant Pathology*, 63, 42-53. Doi: 10.1111/ppa.12080
- De La Fonte, L. Chacón-Díaz, C. & Almeida, R. P. (2017). Enfermedades causadas por la bacteria *Xylella fastidiosa* en Estados Unidos y Costa Rica. In Landa, B. B. [et al.] (Coord.). *Enfermedades causadas por la bacteria "Xylella fastidiosa"*: Monografías 32 (pp. 73-93) Cajamar Caja Rural. ISBN-13: 978-84-95531-86-5
- De Sousa, E., Cardoso, F., Bianco, P., Guimarães, M., & Pereira, V. (2003). Detection and identification of phytoplasmas belonging to 16SrV-D in *Scaphoideus titanus* adults in Portugal. In *Proceedings 14th Meeting of the ICVG, Locorotondo, Bari, Italy, September 12* (Vol. 17, p. 78)
- De Sousa, E., Casati, P., Baltazar, C., Durante, G., Quaglino, F., & Bianco, P.A. (2010). “Flavescence dorée” phytoplasma affecting grapevine (*Vitis vinifera*) newly reported in Portugal. *Plant Pathology*, 59(2), 398.
- Decreto-lei nº 7934/1921 do Ministério da agricultura (1921). Diário da República: I série, nº 255. Obtido de <https://dre.pt/application/conteudo/579512>
- Denancé, N., Legendre, B., Briand, M., Olivier, V., de Boisseson, C., Poliakoff, F., & Jacques, M. A. (2017). Several subspecies and sequence types are associated with the emergence of *Xylella fastidiosa* in natural settings in France. *Plant Pathology*, 66(7), 1054-1064. Doi:10.1111/ppa.12695
- Dermastia, M., Bertaccini, A., Constable, F., Mehle, N. (2017) *Grapevine Yellows Diseases and Their Phytoplasma Agents: Biology and Detection*. Springer Briefs In Agriculture 99 pp.
- Despacho n.º 39/2021 da Direção Geral da Alimentação e Veterinária - DGAV (2021). Estabelecimento da Zona Demarcada de Tavira para *Xylella fastidiosa*. Obtido de <https://www.dgav.pt/plantas/conteudo/sanidade-vegetal/inspecao-fitossanitaria/informacao-fitossanitaria/xylella-fastidiosa/>
- Despacho n.º 40/2021 da Direção Geral da Alimentação e Veterinária – DGAV. (2021). Estabelecimento da Zona Demarcada da Área Metropolitana de Lisboa para *Xylella fastidiosa*. Obtido de <https://www.dgav.pt/plantas/conteudo/sanidade-vegetal/inspecao-fitossanitaria/informacao-fitossanitaria/xylella-fastidiosa/>
- Despacho n.º 46/G/2021 da Direção Geral da Alimentação e Veterinária – DGAV. (2021). Atualização da Zona Demarcada da Área Metropolitana do Porto para *Xylella fastidiosa*. Obtido de <https://www.dgav.pt/wp-content/uploads/2021/08/Despacho-46-2021--ZD-P--XylellafastidiosaAGO2021.pdf>
- DGAV - Direção Geral da Alimentação e Veterinária/Divisão de Inspeção Fitossanitária e de Materiais de Propagação Vegetativa. (2021). *Plano de contingência: Xylella fastidiosa e seus vetores*. Obtido de <https://www.dgav.pt/destaques/noticias/plano-de-contingencia-da-xylella-fastidiosa-e-seus-vetores/>

- Dietrich, C. H. (2009). Auchenorrhyncha. In Resh, V. H., & Cardé, R. T. (Eds.). *Encyclopedia of insects*. Academic press. ISBN: 978-0-12-374144-8
- Dietrich, C. H. (2005). Keys to the families of Cicadomorpha and subfamilies and tribes of Cicadellidae (Hemiptera: Auchenorrhyncha). *Florida Entomologist*, 88, 502-517. Doi:10.1653/0015-4040(2005)88[502:KTTFOC]2.0.CO;2
- Dmitriev, D. A., McKamey, S., Sanborn, A., Takiya, D. M., & Zahniser, J. (2021). 3i World Auchenorrhyncha Database. In O. Bánki, Y. Roskov, L. Vandepitte, R. E. DeWalt, D. Remsen, P. Schalk, T. Orrell, M. Keping, J. Miller, R. Aalbu, R. Adlard, E. Adriaenssens, C. Aedo, E. Aesch, N. Akkari, M. A. Alonso-Zarazaga, B. Alvarez, F. Alvarez, G. Anderson, et al., *Catalogue of Life Checklist* (Jun 2021). Species File Group. <https://doi.org/10.48580/d4sd-4rx>
- Dongiovanni, C., Cavalieri, V., Bodino, N., Tauro, D., Di Carolo, M., Fumarola, G., Altamura G., Lasorella C., & Bosco, D. (2018). Plant selection and population trend of spittlebug immatures (Hemiptera: Aphrophoridae) in olive groves of the Apulia Region of Italy. *Journal of Economic Entomology*, 112(1), 67-74. Doi: 10.1093/jee/toy289
- EFSA - European Food Safety Authority Panel on Plant Health. (2015). Scientific Opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory, with the identification and evaluation of risk reduction options. *EFSA Journal*, 13:3989.
- EFSA - European Food Safety Authority, Di Serio, F., Bodino, N., Cavalieri, V., Demichelis, S., Di Carolo, M., Dongiovanni, C., ... Bosco, D. (2019). Collection of data and information on biology and control of vectors of *Xylella fastidiosa*. *EFSA supporting publication*, 16(5), 1-102. Doi: [10.2903/sp.efsa.2019.EN-1628](https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2019.EN-1628).
- EFSA - European Food Safety Authority. (2018). Update of the *Xylella* spp. host plant database. *EFSA Journal*, 16:5408.
- Elbeaino, T., Yaseen, T., Valentini, F., Ben M., Issam E., Mazzoni, V. & D'Onghia, A. (2014). Identification of three potential insect vectors of *Xylella fastidiosa* in southern Italy. *Phytopathologia Mediterranea*, 53(2), 328-332. Doi: 0.14601/Phytopathol\_Mediterr-14113
- EPPO. (2016). *Normes OEPP EPPO Standards Clavibacter michiganensis*, 59, 99-109.
- EPPO. (2019). PM 7/24 (4) *Xylella fastidiosa*. *EPPO Bulletin*, 49, 175-227. Doi:10.1111/epp.12575
- European Food Safety Authority. (2020). *Update of the Xylella spp host plant database*. Zenodo. Doi:10.5281/zenodo.1339343
- Félix, A. P. & Cavaco, M. (2009) *Manual de Protecção Fitossanitária para Protecção Integrada e Agricultura Biológica da Vinha*. Lisboa: DGADR-DSPFSV. ISBN 978-972-8649-83-8.

- Fereres A. (2015). Insect vectors as drivers of plant virus emergence. *Current Opinion in Virology*, 10, 42-46. Doi: 10.1016/j.coviro.2014.12.008 PMID: 25596461
- Figueiredo, T. (2015). Proteção do solo em viticultura de montanha: manual técnico para a região do Douro. Vila Real: ADVID - Associação para o Desenvolvimento da Viticultura Duriense. ISBN 978-989-98368-5-3. Obtido de <http://hdl.handle.net/10198/14009>
- Francis, M., Lin, H., Rosa, J. C. L., Doddapaneni, H., & Civerolo, E. L. (2006). Genome-based PCR Primers for specific and sensitive detection and quantification of *Xylella fastidiosa*. *European Journal of Plant Pathology*, 115, 203-213. Doi: 10.1007/s10658-006-9009-4
- Franco, J. (2010). Infraestruturas ecológicas e limitação natural dos inimigos das culturas fruteiras. In: *2º Simpósio Nacional de Fruticultura*. Castelo Branco: Actas Portuguesas de Horticultura (pp.255-265)
- Frutuoso, V. S. H. (2018). *O valor das Quintas no Alto Douro vinhateiro - Proposta de roteiro das Quintas de Recreio*. Dissertação de Mestrado. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. Obtido de [https://issuu.com/vivianafrutuoso/docs/disserta\\_o\\_vers\\_o\\_final\\_vivian](https://issuu.com/vivianafrutuoso/docs/disserta_o_vers_o_final_vivian)
- Gergerich, R. C., Welliver, R. A., Gettys, S., Osterbauer, N. K., Kamenidou, S., Martin, R. R., & Tzanetakis, I. E. (2015). Safeguarding fruit crops in the age of agricultural globalization. *Plant Disease*, 99(2), 176-187. Doi: 10.1094/PDIS-07-14-0762-FE
- Guerreiro, V. (2020). *Monitorização e medidas de gestão de Auchenorrhyncha em pomares de prunóideas na Beira Interior: estudo de caso de Asymmetrasca decedens*. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Gestão Ambiental. Lisboa: Faculdade de Ciência de Lisboa.
- Hafi, A., Randall, L., Arthur, T., Addai, D., Tennant, P., & Gomboso, J. (2017). Economic impacts of *Xylella fastidiosa* on the Australian wine grape and wine-making industries. Doi: 10.13140/RG.2.2.34516.91520.
- Hasbroucq, S., Casarin, N., Czwieneczek, E., Bragard, C., & Grégoire, J. C. (2020). Distribution, adult phenology and life history traits of potential insect vectors of *Xylella fastidiosa* in Belgium. *Belgian Journal of Entomology*, 92, 1-21.
- Heinrichs, E. A. & Barrion, A. T. (2004). Rice-Feeding Insects Natural Enemies in and Selected West Africa
- Helbing, F., Fartmann, T., Löffler, F. & Poniatowski, D. (2017). Effects of local climate, landscape structure and habitat quality on leafhopper assemblages of acidic grasslands. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 246, 94-101. Doi: 10.1016/j.agee.2017.05.024
- Hervé, M. (2020). RVAideMemoire: testing and plotting procedures for biostatistics. R package version, 0.9-78. Obtido em outubro 5, 2021, de <https://CRAN.Rproject.org/package=RVAideMemoire>

- Hopkins, D. L. & Purcell, A. H. (2002). *Xylella fastidiosa*: Cause of Pierce's Disease of Grapevine and Other Emergent Diseases. *Plant Diseases*, 86(10), 1056-1066. Doi: 10.1094/PDIS.2002.86.10.1056
- Hosny, M. M., & El-Dessouki, S. A. (1967). Ecological and biological studies on *Empoasca* spp. (Jassidae) in the Cairo area, UAR. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 60(1-4), 397-411.
- IVDP - Instituto da Vinha e do Vinho. (2021). *Estatística*. Obtido em janeiro 20, 2021, de [https://areareservada.ivdp.pt/estatisticas\\_novo2.php?codIdioma=0](https://areareservada.ivdp.pt/estatisticas_novo2.php?codIdioma=0)
- IVDP - Instituto da Vinha e do Vinho. (2021). *Limite da Região Demarcada do Douro*. Obtido em janeiro 26, 2021, de <https://www.ivdp.pt/pt/vinha/regiao/limite-da-regiao-demarca-do-douro/>
- IVDP - Instituto da Vinha e do Vinho. (2021). *RDD - Mapa da Região*. Obtido em janeiro 20, 2021, de <https://www.ivdp.pt/pt/vinha/regiao/rdd-mapa-da-regiao/>
- IVV, IP. (2021a). *A vinha e o vinho em Portugal*, Obtido em janeiro 21, 2021, de <https://www.ivv.gov.pt/np4/47/>
- IVV, IP. (2021b). *Estatística*, Obtido em janeiro 21, 2021, de <https://www.ivv.gov.pt/np4/6953.html>
- IVV, IP. (2021c). *Agentes Económicos no setor Vitivinícola*, Obtido em janeiro 21, 2021, de <https://www.ivv.gov.pt/np4/360/>
- Jackson, R. S. (2008). *Wine science: Principles and applications*. (3.<sup>a</sup> Ed.). Elsevier. ISBN: 978-0-12-373646-8
- Jacobson, J. L. (2006). *Introduction to wine laboratory practices and procedures: With 50 figures, including 2 color plates*. Springer. ISBN-13: 978-0387-24377-1
- Janse, J. D., & Obradovic, A. (2010). *Xylella fastidiosa*: Its biology, diagnosis, control, and risks. *Journal of Plant Pathology*, 92(1 SUPPL.), S35-S48
- Johannesen, J., Foissac, X., Kehrli, P. & Maixner, M. (2012). Impact of vector dispersal and host-plant fidelity on the dissemination of an emerging plant pathogen. *PloS one* 7, e51809. Doi: 10.1371/journal.pone.005180.
- Jones, G. (2013). Uma Avaliação do Clima para a Região Demarcada do Douro: Uma análise das condições climáticas do passado, presente e futuro para a produção de vinho. Colab. Fernando Alves. [s.l.]: ADVID- Associação para o Desenvolvimento Duriense. Obtido de <https://www.advid.pt/imagens/outros/13790697133655.pdf>
- Körösi, Á., Batáry, P., Orosz, A., Rédei, D. & Baldi, A. (2012). Effects of grazing, vegetation structure and landscape complexity on grassland leafhoppers (Hemiptera: Auchenorrhyncha) and true bugs (Hemiptera: Heteroptera) in Hungary. *Insect Conserv Divers.*, 5, 57-66. Doi: 10.1111/j.1752-4598.2011.00153

- Krugner, R., & Ledbetter, C. A. (2016). Rootstock Effects on Almond Leaf Scorch Disease Incidence and Severity. *Plant Disease*, 100(8), 1617-1621. Doi:10.1094/pdis-01-16-0125-re
- Krugner, R., Sisterson, M. S., Backus, E. A., Burbank, L. P., & Redak, R. A. (2019). Sharpshooters: a review of what moves *Xylella fastidiosa*. *Austral Entomology*, 58(2), 248-267. Doi: 10.1111/aen.12397
- Lago, C., Morente, M., De las Heras-Bravo, D., Martí-Campoy, A., Rodríguez-Ballester, F., Plaza, M., Moreno, A. & Fereres, A. (2021). Dispersal of *Neophilaenus campestris*, a vector of *Xylella fastidiosa*, from olive groves to over-summering hosts. *Journal of Applied Entomology*, 648-659. Doi:10.1111/jen.12888
- Landa, B. B., Cortés, J. A. N. & Borrego, M. M. (2017). Características generales de *X. fastidiosa*. In Landa, B. B. [et al.] (Coord.). *Enfermedades causadas por la bacteria "Xylella fastidiosa"*: Monografías 32 (pp. 47-59) Cajamar Caja Rural. ISBN-13: 978-84-95531-86-5
- Landi, L., Isidoro, N. & Riolo, P. (2013). Natural phytoplasma infection of four phloem-feeding Auchenorrhyncha across vineyard agroecosystems in central-Eastern Italy. *Journal of Economic Entomology*, 106, 604-613. Doi:10.1603/EC12400
- Le Quesne, W. J., Payne, K. R. (1981). *Cicadellidae (Typhlocybinae) with a check list of the British Auchenorrhyncha (Hemiptera, Homoptera)*. Handbooks Identification British Insects II, Part 2.
- Leitão, J. C. F. (2015). *A cultura da vinha em Portugal e as consequências da adesão à União Europeia. Caso de estudo: A Região Demarcada do Douro*. Dissertação de Mestrado em Gestão do território; Área de Especialização em Ambiente e Recursos Naturais. Lisboa: Universidade Nova de Lisboa. Obtido de <http://hdl.handle.net/10362/16155>
- Lima, C. (2012). *Elaboração de um plano de amostragem para Empoasca vitis Göethe (Homoptera; Cicadellidae) em vinha na sub-região do Lima da Região Demarcada dos Vinhos Verdes*. Dissertação de Mestrado em Agricultura Biológica. Ponte de Lima: Inst. Pol. Viana do Castelo.
- Lopes, J. R., Landa, B. B., & Fereres, A. (2014). A survey of potential insect vectors of the plant pathogenic bacterium *Xylella fastidiosa* in three regions of Spain. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 12(3), 795-800.
- Magalhães, N. (2015). *Tratado de viticultura: A videira, a vinha e o terroir*. (2ª Ed). Esfera Poética. ISBN 9789899820739
- Maixner, M. (2011). *Recent advances in bois noir research*. *Petria*, 21, 17-32.
- Maixner, M., Ahrens, U., & Seemüller, E. (1995). Detection of the German grapevine yellows (Vergilbungskrankheit) MLO in grapevine, alternative hosts and a vector by a specific PCR procedure. *European Journal of Plant Pathology*, 101, 241-250.

- Mani, M., Shivaraju, C., & Kulkarni, N. S. (2014). *The Grape Entomology*. Springer India. Doi:10.1007/978-81-322-1617-9
- Martins, R., Pires, A., Loureiro, S., Soares, A. & Freitas, R. (2014). Monitorização da macrofauna bentónica no âmbito da empreitada de intervenção na zona da barra de Aveiro. Univ. de Aveiro - Depart. Biologia & CESAM. Obtido de [https://siaia.apambiente.pt/AIADOC/PA454/anexo\\_rm\\_bentonicas\\_201311\\_pa\\_porto\\_de\\_aveiro2019513135027.pdf](https://siaia.apambiente.pt/AIADOC/PA454/anexo_rm_bentonicas_201311_pa_porto_de_aveiro2019513135027.pdf)
- Masters, G. J., Brown, V. K., Clarke, I. P., Whittaker, J. B. & Hollier, J. A. (1998). Direct and indirect effects of climate change on insect herbivores: Auchenorrhyncha (Homoptera). *Ecological Entomology*, 23, 45-52. Doi:10.1046/j.1365-2311.1998.00109.x
- Mazzoni, V. (2005). Contribution to the knowledge of the Auchenorrhyncha (Hemiptera Fulgoromorpha and Cicadomorpha) of Tuscany (Italy). *Redia*, 88, 85-102.
- McClure, M. S. (1982). Factors affecting colonization of an orchard by leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) vectors of peach X-disease. *Environmental Entomology*, 11, 695- 700. Doi:10.1093/ee/11.3.695
- Morente, M. & Fereres, A. (2017). Vectores de *Xylella fastidiosa*. In Landa, B. B. [et al.] (Coord.). *Enfermedades causadas por la bacteria "Xylella fastidiosa"*: Monografias 32 (pp. 73-93) Cajamar Caja Rural. ISBN-13: 978-84-95531-86-5
- Morente, M., Cornara, D., Plaza, M., Durán, J., Capiscol, C., Trillo, R., . . . Fereres, A. (2018). Distribution and Relative Abundance of Insect Vectors of *Xylella fastidiosa* in Olive Groves of the Iberian Peninsula. *Insects*, 9(4), 175. Doi: 10.3390/insects9040175
- Morente, M., Moreno, A. & Fereres, A. (2017): Vectores potenciales de *Xylella fastidiosa* en olivares de la península Ibérica: prospección, riesgos y estrategias preventivas de control (POnTE). *Phytoma*, 285, 32-37.
- Mori, N., Quaglino, F., Sanna, F., Moussa, A., Faccincani, M., & Bianco, P. A. (2018). New insights on insect vectors transmitting ‘Candidatus Phytoplasma solani’ to grapevine. In *Bois Noir*.
- Mosna, A. C. (2005). Dinamica di popolazione e parassitizzazione di *Empoasca vitis* Göthe in vigneti trentini a conduzione biológica. Tesina di fine curso. Istituto Agrario di San Michele all’Adige, Trento. 83.
- Nascimento, P. (2020). *Auchenorrhyncha monitoring and proposal of management measures for potential pests on peach orchards in Beira Interior region*. Tese de Mestrado em Ecologia e Gestão Ambiental. Lisboa: Faculdade de Ciências de Lisboa. Obtido de <http://hdl.handle.net/10451/45399>
- National Research Council. (2004). *California agricultural research priorities: Pierce's disease*. National Academies Press.

- Navarro Ortín, A. (2016). *Xylella fastidiosa* (Wells et al., 1987), the dangerous pathogen in Europe. Doctoral dissertation. València: Universitat Politècnica de València.
- Neto, A. (2019). *Potential vectors of Xylella fastidiosa in portuguese olive orchards: survey in Alentejo region and control measures*. Tese de Mestrado em Ecologia e Gestão Ambiental. Lisboa: Faculdade de Ciências de Lisboa, 130pp.
- Nielson, W. (1968). The leafhopper vectors of phytopathogenic viruses (homoptera, cicadellidae) taxonomy, biology, and virus transmission. Technical Bulletin No. 1382 Agricultural, 1689-1699.
- Novotny, V., & Wilson, M. R. (1997). Why are there no small species among xylem-sucking insects?. *Evolutionary Ecology*, 11(4), 419-437.
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., ... Wagner, H. (2019). *Vegan: Community ecology package*. Obtido de <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/vegan.pdf>
- Oliveira, M. J. R. A., Castro, S., Paltrinieri, S., Bertaccini, A., Sottomayor, M., Santos, C. S., Vasconcelos, M. W., Carvalho, S. M. P. (2020) “Flavescence dorée” impacts growth, productivity and ultrastructure of *Vitis vinifera* plants in Portuguese “Vinhos Verdes” region. *Scientia Horticulturae (Amsterdam)*. 261, 108742. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108742>
- Overall, L. M., & Rebek, E. J. (2017). Insect vectors and current management strategies for diseases caused by *Xylella fastidiosa* in the southern United States. *Journal of Integrated Pest Management*, 8(1). Obtido de <https://doi.org/10.1093/jipm/pmx005>
- Panzavolta, T., Bracalini, M., Croci, F., Ghelardini, L., Luti, S., Campigli, S., Goti, E., Marchi, R., Tiberi, R., Marchi, G. (2019). *Philaenus italosignus* a potential vector of *Xylella fastidiosa*: occurrence of the spittlebug on olive trees in Tuscany (Italy) *Bulletin of Insectology*, 72(2), 317-320.
- Pautasso, M., Petter, F., Rortais, A. & Roy, A. S. (2015). Emerging risks to plant health: a European perspective. *CAB Reviews*, 10(021), 1-16.
- Pereira, G. M. (1996). *A Região do Vinho do Porto- origem e evolução de uma marcação pioneira in Douro - Estudos & Documentos*. Vol 1. (pp. 177-194). GEHVID - Grupo de Estudos de História e Viticultura Duriense e do Vinho do Porto. Porto: Faculdade de Letras da Universidade do Porto. Obtido de <https://hdl.handle.net/10216/29880>
- Picciau, L., Orrù, B., Mandrioli, M., Gonella, E. & Alma, A. (2020). Ability of *Euscelidius variegatus* to transmit flavescence dorée phytoplasma with a short latency period. *Insects*, 11, 1-12. Obtido de <https://doi.org/10.3390/insects11090603>
- Pla, L. (2006). *Biodiversidad: Inferencia basada en el índice de Shannon y la riqueza*. *Interciencia*, 31(8), 583-590. Obtido de [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442006000800008&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006000800008&lng=es&tlng=es).

- Pompon, J., Quiring, D., Goyer, C., Giordanengo, P., & Pelletier, Y. (2011). A phloem-sap feeder mixes phloem and xylem sap to regulate osmotic potential. *Journal of Insect Physiology*, 57(9), 1317-1322.
- Popova, G. (2020). *Identification of potential vectors of Xylella fastidiosa in Portuguese olive orchards and weeds*. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Gestão Ambiental. Lisboa: Faculdade de Ciências de Lisboa.
- Portal do Clima. (2021). Obtido em janeiro 20, 2021, de <http://portaldoclima.pt/pt/>
- Portaria n.º 243/2020 do Ministério da Agricultura e Mar (2020). Diário da República: I Série, n.º 200/10. Implementa procedimentos e medidas de proteção fitossanitária, adicionais, destinadas à erradicação no território nacional da bactéria de quarentena *Xylella fastidiosa* (Wells et al.). Obtido de <https://dre.pt/home/-/dre/145359683/details/maximized?serie=I>
- Prance, G. T., & Nesbitt, M. (2005). *The cultural history of plants*. New York: Routledge. ISBN 0-203-02090-1
- Purcell, A. H. (2009). Plant Diseases and Insects. In Resh, V. H., & Cardé, R. T. (Eds.). *Encyclopedia of insects*. Academic press. ISBN: 978-0-12-374144-8
- Purcell, A. H. (1980) Almond Leaf Scorch: Leafhopper and Spittlebug Vectors<sup>12</sup>. *Journal of Economic Entomology*, 73, 834-838
- Quaglino, F., Maghradze, D., Casati, P., Chkhaidze, N., Lobjanidze, M., Ravasio, A., Passera, A., Venturini, G., Failla, O. & Bianco, P. A. (2016). Identification and characterization of new ‘*Candidatus phytoplasma solani*’ strains associated with bois noir disease in *Vitis vinifera* L. cultivars showing a range of symptom severity in Georgia, the Caucasus region. *Plant Disease*. 100, 904-915. Doi:10.1094/PDIS-09-15-0978-RE
- Quaglino, F., Sanna, F., Moussa, A., Faccincani, M., Passera, A., Casati, P., Bianco, P. A. & Mori, N. (2019). Identification and ecology of alternative insect vectors of ‘*Candidatus Phytoplasma solani*’ to grapevine. *Scientific Reports*., 9(1), 1-11.
- Rebello, M. (1993). *Estudo das cigarrinhas verdes da vinha (Homoptera, Cicadellidae) numa perspectiva de proteção integrada: biologia, ecologia e estratégias de luta*. Dissertação de Mestrado em Proteção Integrada. Lisboa: Instituto Superior de Agronomia.
- Redak, R. & Blua, M. J. (2002). Impact of layering control tactics on the spread of Pierce’s disease by the glassy-winged sharpshooter. Proceedings of CDFA Pierce’s disease research symposium, 15-18 de diciembre de 2002. Coronado, CA (pp. 311-313)
- Redak, R. A., Purcell, A. H., Lopes, J. R., Blua, M. J., Mizell, R. F., & Andersen, P. C. (2004). The biology of xylem fluid-feeding insect vectors of *Xylella fastidiosa* and their relation to disease epidemiology. *Annual Review of Entomology*, 49(1), 243-270. Doi:10.1146/annurev.ento.49.061802.123403

- Retchless, A. C., Labroussaa, F., Shapiro, L., Stenger, D. C., Lindow, S. E., & Almeida, R. P. P. (2014). Genomic insights into *Xylella fastidiosa* interactions with plant and insect hosts. In *Genomics of Plant-Associated Bacteria* (pp. 177-202). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg
- Rodrigues, A. S. B., Silva, S. E., Marabuto, E., Silva, D. N., Wilson, M. R., Thompson, V., Yurtsever, S., Halkka, A., Borges, P. A. V., Quartau, J. A., Paulo, O. S., Seabra, S. G. (2014). New mitochondrial and nuclear evidence support recent demographic expansion and an atypical phylogeographic pattern in the spittlebug *Philaenus spumarius* (Hemiptera, Aphrophoridae). *PLoS One*, 9, 1-12. Doi: 10.1371/journal.pone.0098375
- Santoemma, G., Tamburini, G., Sanna, F., Mori, N., Marini, L. (2004). Landscape composition predicts the distribution of *Philaenus spumarius*, vector of *Xylella fastidiosa*, in olive groves. *Journal of Pest Science*, 92, 1101-1109. Doi:10.1007/s10340-019-01095-8
- Saponari, M., Boscia, D., Nigro, F., Martelli, G. P. (2013). Identification of DNA sequences related to *Xylella fastidiosa* in oleander, almond and olive trees exhibiting leaf scorch symptoms in Apulia (southern Italy). *Journal of Plant Pathology*. Obtido de <https://doi.org/10.4454/JPP.V95I3.034>
- Saponari, M., Giampetruzzi, A., Loconsole, G., Boscia, D., & Saldarelli, P. (2019). *Xylella fastidiosa* in olive in Apulia: Where we stand. *Phytopathology*, 109, 175-186. Doi:10.1094/PHYTO-08-18-0319-FI
- Saponari, M., Loconsole, G., Cornara, D., Yokomi, R. K., Stradis, A., De Boscia, D., Bosco, D., Martelli, G. P., Krugner, R., Porcelli, F. (2014). Infectivity and transmission of *Xylella fastidiosa* by *Philaenus spumarius* (Hemiptera: Aphrophoridae) in Apulia, Italy. *Journal of Economic Entomology*, 107, 1316-1319. Doi: 10.1603/EC14142
- Schneider, K., Van der Werf, W., Cendoya, M., Mourits, M., Navas-Cortés, J. A., Vicent, A., Lansink, A.O. (2020). Impact of *Xylella fastidiosa* subspecies *pauca* in European olives. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(17), 9250-9259. Doi:10.1073/pnas.1912206117
- Sicard, A.; Zeilinger, A. R.; Vanhove, M.; Schartel, T. E.; Beal, D. J.; Daugherty, M. P.; & Almeida, R. P. P. (2018). *Xylella fastidiosa*: Insights into an emerging plant pathogen. *Annual Review of Phytopathology*, 56, 181-202. Doi:10.1146/annurev-phyto-080417-045849
- Silva, F. R. (1996). Do Douro ao Porto: o protagonismo do vinho na época moderna. *Douro: estudos & documentos*, 1(2), 93-118. Obtido de <http://repositorio-aberto.up.pt/handle/10216/30660>
- Simões, O. (2003). *A regulação do mercado do vinho em Portugal: uma análise de longo prazo*. Escola Superior Agrária de Coimbra, Bencanta, Coimbra. Obtido de <https://sper.pt/oldsite/VCHER/Pdfs/OrlandoSimoes.pdf>

- SNAA - Serviço Nacional de Avisos agrícolas. (2019). *Estação de avisos entre o Douro e o minho circular n° 08*.
- SNAA - Serviço Nacional de Avisos agrícolas. (2020). *Estação de avisos entre o Douro e o minho circular n° 13*.
- Streito, J. C., Pierre, E., Genson, G., Bellifa, M., Chartois, M., Germain, J. F., ... Jean, Y. R. (2019). A Barcode database to identify the vectors of *Xylella fastidiosa* in Europe. *Europe Xylella conference on 2019*.
- Thorne, E. T.; Stevenson, J. F.; Rost, T. L.; Labavitch, J. M.; & Matthews, M. A. (2006). Pierce' s Disease Symptoms: Comparison with Symptoms of Water Deficit and the Impact of Water Deficits. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57, 1-11.
- Tsagkarakis, A. E., Afentoulis, D. G., Matared, M., Thanou, Z. N., Stamatakou, G. D., Kalaitzaki, A. P., ... Perdakis, D. C. (2018). Identification and Seasonal Abundance of Auchenorrhyncha with a Focus on Potential Insect Vectors of *Xylella fastidiosa* in Olive Orchards in Three Regions of Greece. *Journal of Economic Entomology*, 111, 2536-2545. Doi:10.1093/jee/toy239
- Tumber, K. P.; Alston, J. M; & Fuller, K. B. (2014). Pierce's disease costs California \$104 million per year. *California Agriculture*, 68, 20-9.
- Van Emden, H. F. (2013). *Handbook of Agricultural Entomology*. John Wiley and Sons.
- Varela, J. (2008). Estruturas da Propriedade e Culturas Regionais. In M. F. Lages; A. T. Matos (Coord.), *Portugal: Percursos de Interculturalidade (Vol. I)* (pp 226-261). Alto Comissariado para a Imigração e Minorias Étnicas (ACIME). ISBN 978-989-8000-58-3.
- Varela, L. G., Smith R. & Phillips, P. A. (2001). *Pierce's Diseases*. University of California: Agriculture and Natural Resources
- Xia, Y., Sun, J. & Chen, D. G. (2018). *Statistical analysis of microbiome data*. R. Chen, J., Chen D-G (eds.). Springer. Singapore. pp. 505.
- Zhixian, K. Z. (1996). Study on the biological characters of *Tettigella viridis*. *Journal of Jilin Agricultural University* (3).

## **Anexos**

Catálogo de exemplares de insetos, recolhidos no presente trabalho, organizados por famílias, com vista dorsal e frontal (escala variável).

### **Infraordem Cicadomorpha**

Família Aphrophoridae

Família Cicadellidae

### **Infraordem Fulgoromorpha**

Família Cixiidae

Família Caliscellidae

Família Issidae

Família Delphacidae

Família Dictyopharidae

Família Tettigometridae

## Família Aphrophoridae: Género Philaenus

Diferentes polimorfismos de *Philaenus spumarius* identificados nas vinhas amostradas:



*Philaenus spumarius*  
(Linnaeus, 1758)



*Philaenus spumarius* (Linnaeus,  
1758)



*Philaenus spumarius*  
(Linnaeus, 1758)



*Philaenus spumarius*  
(Linnaeus, 1758)



*Philaenus spumarius*  
(Linnaeus, 1758)



*Philaenus spumarius* (Linnaeus,  
1758)



*Philaenus spumarius*  
(Linnaeus, 1758)



## Família Aphrophoridae: Género Neophilaenus

Diferentes polimorfismos de *Neophilaenus campestris* identificados nas vinhas amostradas:



*Neophilaenus campestris*  
(Fallén, 1805)

*Neophilaenus campestris*  
(Fallén, 1805)

## Família Cicadellidae



*Empoasca vitis*  
(Göthe, 1875)



*Zygimidia scutellaris*  
(Herrich-Schäffer, 1838)



*Psammotettix* sp1



*Neoliturus fenestratus*  
(Herrich-Schäffer, 1834)



*Anaceratagallia laevis* (Ribaut, 1935)



*Phlepsius ornatus*  
(Perris, 1857)



*Empoasca vitis*  
(Göthe, 1875)



*Zygimidia scutellaris*  
(Herrich-Schäffer, 1838)



*Psammotettix* sp1



*Neoliturus fenestratus*  
(Herrich-Schäffer, 1834)



*Anaceratagallia laevis* (Ribaut, 1935)



*Phlepsius ornatus*  
(Perris, 1857)



*Euscelis ohausi*  
Wagner, 1939



*Anaceratagallia venosa* Fourcroy, 1785



*Scaphoideus titanus*  
Ball, 1932



*Anaceratagallia laevis* (Ribaut, 1935)



*Rhopalopyx vitripennis* (Flor, 1861)



*Goniagnathus brevis*  
(Herrich-Schäffer, 1835)



*Euscelis ohausi*  
Wagner, 1939



*Anaceratagallia venosa* Fourcroy, 1785



*Scaphoideus titanus*  
Ball, 1932



*Anaceratagallia laevis* (Ribaut, 1935)



*Rhopalopyx vitripennis* (Flor, 1861)



*Goniagnathus brevis*  
(Herrich-Schäffer, 1835)



*Goniagnathus guttulinervis*  
(Kirschbaum, 1868)

*Athysanus argentarius* Metcalf,  
1955

*Doliotettix lunulatus*  
(Zetterstedt, 1840)

*Goniagnathus guttulinervis*  
(Kirschbaum, 1868)

*Euscelidius variegatus*  
(Kirschbaum, 1858)

*Psammattettix*  
sp3



*Ribautiana tenerrima*  
(Herrich-Schäffer, 1834)

*Balclutha* sp2

*Macrosteles alpinus*  
(Zetterstedt, 1828)

*Fruticidia bisignata*  
(Mulsant & Rey,  
1855)

*Eupteryx* sp1

*Agallia consobrina*  
Curtis, 1833



*Cicadella viridis*  
(Linnaeus, 1758)



*Alebra coryli* Le  
Quesne, 1977



*Dryodurgades antoniae*  
(Melichar, 1907)



*Zygina* sp1



*Enantiocephalus*  
sp1



*Zygina ordinaria*  
(Ribaut, 1936)



*Cicadella viridis*  
(Linnaeus, 1758)



*Alebra coryli* Le  
Quesne, 1977



*Dryodurgades antoniae*  
(Melichar, 1907)



*Enantiocephalus*  
sp1



*Zygina ordinaria*  
(Ribaut, 1936)



*Psammattix* sp4



*Agallia* sp1



*Stroggylocephalus* sp1



*Balclutha*  
*punctata*  
(Fabricius,  
1775)



*Psammattix* sp2



*Balclutha frontalis*  
(Ferrari, 1882)



*Psammattix* sp4



*Agallia* sp1



*Stroggylocephalus* sp1



*Balclutha*  
*punctata*  
(Fabricius,  
1775)



*Psammattix* sp2



*Balclutha frontalis*  
(Ferrari, 1882)



*Eupteryx* sp2

*Neoliturus fenestratus*  
(Herrich-Schäffer, 1834)

*Platymetopius major* (Kirschbaum, 1868)

*Psammattetix* sp6

*Sardius argus*  
(Marshall, 1866)

*Hardya tenuis*  
(Germar, 1821)



*Idiocerus lituratus* (Fallén, 1806)

*Aphrodes* sp1

*Deltocephalinae* sp1

*Psammattetix* sp5

*Euscelis incisus*  
(Kirschbaum, 1858)

*Austroagallia sinuata* (Mulsant & Rey, 1855)



*Balclutha punctata* (Fabricius, 1775)

*Balclutha punctata* (Fabricius, 1775)

*Eupelix cuspidata* (Fabricius, 1775)

*Dryodurgades antoniae* (Melichar, 1907)

*Deltocephalinae* sp2

*Exitianus capicola* (Stal, 1855)



*Anaceratagallia laevis* (Ribaut, 1935)

*Balclutha* sp1

*Cicadula* sp1

*Jacobiasca lybica* (Bergevin & Zanon, 1922)

*Arboridia* sp1

*Megophthalmus scabripennis* Edwards, 1915

## Família Cixiidae



*Pentastiridius leporinus* (Linnaeus, 1761)

*Trigonocranus emmeae*  
Fieber, 1876

## Família Caliscellidae



*Caliscelidae* sp1



*Caliscelidae* sp2



## Família Issidae



*Agalmatium bilobum* (Fieber,  
1877)



*Fieberium impressum* (Fieber,  
1877)

## Família Delphacidae



*Laodelphax striatellus*  
(Fallén, 1826)



*Unkanodes excisa*  
(Melichar, 1898)



*Paraliburnia clypealis*  
(Sahlberg, 1871)



*Metadelphax propinquus* (Fieber, 1866)



*Asiraca clavicornis*  
(Fabricius, 1794)



*Kelisia guttula*  
(Germar, 1818)



*Kelisia* sp1



## Família Dictyopharidae



*Almanan longipes* (Dufour, 1849)

*Bursinia genei* (Dufour, 1849)

*Bursinia parvula* Horváth, 1910

## Família Tettigometridae



*Tettigometra  
impressopunctata* Dufour,  
1846



*Tettigometra* sp1



*Tettigometra* sp2



*Tettigometra* sp3



*Tettigometra* sp4



*Tettigometra* sp5

