





# I GEORGOFILI

Quaderni  
2014-IV



## BATTERI VASCOLARI FITOPATOGENI TRASMESSI DA INSETTI

Firenze, 4 dicembre 2014



EDIZIONI POLISTAMPA

*Con il contributo di*



ENTE CASSA DI RISPARMIO DI FIRENZE

Copyright © 2015  
Accademia dei Georgofili  
Firenze  
<http://www.georgofili.it>

Proprietà letteraria riservata

Supplemento a «I Georgofili. Atti della Accademia dei Georgofili»  
Anno 2014 - Serie VIII - Vol. 11 (190° dall'inizio)

Direttore responsabile: Paolo Nanni

Edizioni Polistampa  
Via Livorno, 8/32 - 50142 Firenze  
Tel. 055 737871 (15 linee)  
[info@polistampa.com](mailto:info@polistampa.com) - [www.polistampa.com](http://www.polistampa.com)  
Sede legale: Via Santa Maria, 27/r - 50125 Firenze

ISBN 978-88-596-1492-0

Servizi redazionali, grafica e impaginazione  
SOCIETÀ EDITRICE FIORENTINA

## INDICE

GIOVANNI P. MARTELLI, MAURIZIO CONTI <i>Malattie causate da batteri vascolari trasmessi da insetti</i>	7
ALBERTO ALMA, DOMENICO BOSCO <i>Insetti vettori di batteri floematici e xilematici</i>	23
DONATO BOSCIA, MARIA SAPONARI, FRANCO NIGRO, GIOVANNI P. MARTELLI <i>Il caso del disseccamento rapido dell'olivo:   sintomatologia ed eziologia</i>	41
FRANCESCO PORCELLI, DANIELE CORNARA <i>Biologia, etologia e controllo dei vettori   in relazione all'epidemiologia del CoDiRO</i>	51
BRUNO CAIO FARAGLIA, ANTONIO GUARIO <i>Aspetti normativi e strategie di contenimento di Xylella fastidiosa:   una complessa prova di gestione per il sistema di difesa nazionale</i>	59



## Malattie causate da batteri vascolari trasmessi da insetti

### INTRODUZIONE

È dalla metà del secolo scorso che vengono segnalate, con sempre maggior frequenza, fitopatie caratterizzate da nanismo, malformazioni di tipo ormonale (virescenza e scopazzi, ad esempio) e giallumi (yellows), ovvero da manifestazioni necrotiche a carico della vegetazione, quali disseccamenti apicali e marginali delle foglie (brusca) di alcune branche, che possono estendersi all'intera pianta con esiti non di rado letali. L'eziologia di queste malattie, inizialmente diagnosticate come virosi a causa della sintomatologia e della trasmissibilità con insetti fitomizi, venne chiarita a partire dalla fine degli anni '60 del secolo scorso, grazie soprattutto alla microscopia elettronica, che individuò cellule di microrganismi procarioti nei tessuti vascolari delle piante infette. In particolare, le sindromi caratterizzate da giallumi e anomalie della crescita risultarono associate alla presenza di agenti privi di parete cellulare, simili ai micoplasmi, già noti come patogeni degli animali, che furono definiti '*Mycoplasma-like organisms*' (oggi fitoplasmi). Invece, nel sistema conduttore delle piante affette da sindromi caratterizzate da manifestazioni necrotiche risultarono presenti batteri propriamente detti, dotati di parete cellulare, inizialmente definiti rickettsia-simili ('*Rickettsia-like organisms*').

Nel loro insieme, agli agenti delle fitopatie di cui sopra ci si riferisce come batteri vascolari fitopatogeni (BVF) dei quali, a tutt'oggi, sono stati individuati cinque diversi generi:

\* Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università di Bari Aldo Moro

\*\* Istituto di Protezione Sostenibile delle Piante, Sezione di Virologia, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Torino

- (i) *Spiroplasma*: parete cellulare assente, coltivabile su substrati artificiali;
- (ii) *Candidatus Phytoplasma*: parete cellulare assente, non coltivabile, anche se un risultato positivo, che necessita conferma, è stato riportato recentemente (Contaldo et al., 2012);
- (iii) *Candidatus Liberibacter*: parete cellulare presente, non coltivabile (ecceetto per *Liberibacter crescens*);
- (iv) *Candidatus Phlomobacter*: parete cellulare presente, non coltivabile;
- (v) *Candidatus Arsenophonus phytopathogenicus*: parete cellulare presente, noncoltivabile;
- (vi) *Xylella*, parete cellulare presente, coltivabile, pur se con difficoltà.

La trattazione che segue è incentrata sui batteri intracellulari con parete cellulare (*Candidatus Liberibacter*, *Candidatus Phlomobacter* e *Xylella*), quali patogeni da quarantena agenti di malattie emergenti anche in Europa. Essa, pertanto, tralascia fitoplasmi e spiroplasmi, della cui natura e affezioni indotte molto è noto (Weintraub e Jones, 2010) e si è già discusso, anche in sede georgofila (I Georgofili, 2008).

#### BATTERI VASCOLARI FITOPATOGENI

*Candidatus Liberibacter* e *Candidatus Phlomobacter* colonizzano i vasi cribrosi degli ospiti, mentre *Xylella* si localizza in quelli legnosi (Chatterjee et al., 2008). Floema e xilema sono, pertanto, i loro siti di moltiplicazione e accumulo, dai quali essi vengono acquisiti dagli insetti vettori floemomizi e xilemomizi, rispettivamente, che ne effettuano la diffusione in natura.

*Candidatus Liberibacter* e *Xylella* sono responsabili di malattie di colture agrarie di primaria importanza che, in tempi recenti, si sono manifestate anche in Europa, acquisendo la connotazione di emergenze fitosanitarie, così come lo sono, ancorché in tono minore, le affezioni indotte dai *Candidatus Phlomobacter*.

Di *Xylella* si conosce una sola specie (*Xylella fastidiosa*), suddivisa in quattro sottospecie (Shaad et al., 2004; Almeida e Retchless, 2013) differenziabili per il diverso comportamento biologico (gamma d'ospiti) e, soprattutto, su base molecolare: *Xylella fastidiosa fastidiosa* (vite, mandorlo), *X. fastidiosa multiplex* (drupacee, querce, olivo), *X. fastidiosa sandyi* (oleandro), *X. fastidiosa pauca* (agrumi, caffè, olivo, oleandro, mandorlo). Una ulteriore sottospecie (*X. fastidiosa tashke*) che infetta *Chitalpa tashkentensis*, non è considerata valida, mentre una nuova sottospecie potrebbe essere rappresentata da un ceppo



batterico con importanti caratteristiche molecolari differenziali che infetta il pero a Taiwan (Su et al., 2012).

Molteplici sono le specie di *Candidatus liberibacter* a tutt'oggi descritte: *Ca. liberibacter africanus* (agrumi) con la sottospecie “capensis” (unico ospite *Calodendrum capense*); *Ca. liberibacter asiaticus* (agrumi); *Ca. liberibacter americanus* (agrumi); *Ca. liberibacter solanacearum* (= *Ca. liberibacter psyllaureus*) (solanacee, carota, sedano); *Ca. liberibacter europaeus* [pero, non patogenico (Raddadi et al., 2011)] e *Liberibacter crescens* [babaco, non patogenico (Fagen et al., 2012)], il cui isolamento in coltura è prevedibile che ufficializzi la validità tassonomica del genere *Liberibacter*, che così uscirebbe dal limbo “*Candidatus*”.

Di *Candidatus phlomobacter* se ne conoscono due specie filogeneticamente correlate: *Ca. phlomobacter fragariae*, agente della clorosi marginale della fragola e il  $\gamma$ -proteobatterio, citato nella recente bibliografia col nome di *Candidatus Arsenophonus phytopathogenicus* (Bressan et al., 2011) e ritenuto il probabile agente della “sindrome da basso contenuto di zucchero” [syndrome “basses richesses”] della barbabietola da zucchero.

Si ritiene che le quattro sottospecie di *Xylella* si siano evolute in isolamento geografico con i seguenti centri di origine: America Centrale (*X. fastidiosa fastidiosa*); parte meridionale degli USA (*X. fastidiosa multiplex*) e Sud America (*X. fastidiosa pauca*). Incerta è l'origine di *X. fastidiosa sandyi* (Nunney et al., 2013).

Più complessa è la ricostruzione dell'origine delle specie di *Ca. liberibacter* che si fa risalire alla differenziazione da una singola specie nel periodo Permiano (ca. 300 milioni di anni fa). A nord dell'equatore del supercontinente Pangea si sarebbero differenziati *Ca. liberibacter solanacearum*, *Ca. liberibacter americanus* e *Ca. liberibacter europaeus* e, al disotto dell'equatore, *Ca. liberibacter asiaticus* e *Ca. liberibacter africanus*. Queste specie si sarebbero allontanate geograficamente l'una dall'altra a seguito della separazione di Pangea in Laurasia e Gondwana e, ancora di più, quando si sono formati gli attuali continenti. I traffici commerciali intercontinentali ne hanno determinato la distribuzione odierna (Nelson et al., 2013).

La trasmissione dei BVF da pianta a pianta può avvenire mediante innesto, occasionali anastomosi radicali e, soprattutto, per il tramite di insetti floemomizi o xilemomizi (psille e cicaline) in virtù della localizzazione dei batteri nell'ospite vegetale. In condizioni sperimentali, la trasmissione può essere effettuata anche tramite ‘ponte’ di cuscuto tra pianta infetta e pianta sana. Circa il processo di trasmissione con vettori, studi condotti su *Xylella* hanno dimostrato che le cicaline adulte possono trasmettere il batterio anche

subito dopo averlo acquisito da piante malate e che rimangono infettive (= inoculative) per il resto della loro vita, che può protrarsi per diversi mesi. Si è osservato, inoltre, che le ninfe infettive non trasmettono più il patogeno dopo una muta, a dimostrazione che, nel vettore, il batterio è localizzato lungo il tratto del canale alimentare che perde la cuticola di rivestimento durante la muta (Purcell et al., 1979). Al proposito, indagini di microscopia ottica, elettronica e di immunomicroscopia hanno confermato che *X. fastidiosa* è ritenuta dal vettore nel dotto alimentare distale in forma di caratteristici aggregati incorporati in una sostanza gelatinosa. Questi si trovano lungo le pareti del cibario, con maggior frequenza in prossimità dei punti di connessione con il precibario da un lato, e con l'inizio dell'esofago dall'altro (Purcell et al., 1979; Killiny e Almeida, 2014).

Da quanto sopra si può concludere che il processo di trasmissione di *Xylella* da parte di cicaline è di tipo persistente (= lunga ritenzione dell'infettività) e non-circolativo (= perdita dell'infettività con la muta). La persistenza dell'infettività per tempo indefinito è sostenuta dalla moltiplicazione delle cellule batteriche nel corpo del vettore.

*Xylella* e altri patogeni trasmessi da cicaline hanno spettro di ospiti relativamente ampio e, per lo più, un elevato numero di insetti vettori, il che garantisce sia la presenza di un consistente inoculo naturale che un potenziale di diffusione elevato, come del resto comprovano i recenti casi di epidemie in diverse aree geografiche (Hopkins, 1989; Redak et al., 2004; Saponari et al., 2013). L'efficienza del processo di trasmissione rafforza ulteriormente il potenziale di diffusione mentre la globalizzazione in atto estende il rischio di nuovi focolai di infezione a livello mondiale. Sono invece carenti gli elementi per abbozzare un profilo epidemiologico delle fitopatie indotte da BVF trasmessi da psille, soprattutto a causa delle scarse conoscenze sulla biologia di questi insetti. Si può soltanto rilevare che le malattie di questo gruppo hanno una gamma di ospiti vegetali moderatamente ampia e un numero di vettori inferiore alle precedenti. Anch'esse, però, sembrano in espansione in tutto il mondo.

#### MALATTIE INDOTTE DA *CANDIDATUS LIBERIBACTER*

##### *Huanglongbing*

La “malattia del drago giallo” [Huanglongbing (HLB)], originaria della Cina ove è stata descritta nel 1919 (Bové, 2006), è una gravissima affezione

degli agrumi che, in meno di un secolo si è ampiamente diffusa nel mondo, tanto da essere oggi presente in circa 40 diversi Paesi dell'Asia, Africa, Oceania, Nord e Sud America. Non è ancora penetrata nel bacino del Mediterraneo, pur se ne è alle porte (Arabia Saudita e Yemen). Il suo agente, individuato all'inizio degli anni '70 del secolo scorso (Lafèche e Bové, 1970), è un batterio Gram-negativo localizzato nei vasi cribrosi, appartenente al genere *Candidatus liberibacter* del quale, come su ricordato, si conoscono tre specie che infettano gli agrumi: *Ca. liberibacter asiaticus*, presente nei Paesi asiatici e in minor misura in Brasile e USA (Florida); *Ca. liberibacter africanus* con la sottospecie "capensis", diffuso in Africa e *Ca. liberibacter americanus* di stanza in Brasile.

I sintomi di HLB sono virtualmente gli stessi ovunque la malattia si manifesta e consistono nell'ingiallimento dei germogli e nella comparsa sulle foglie di maculature clorotiche che possono essere scambiate per manifestazioni da carenza di microelementi. Le piante colpite presentano uno stato di sofferenza generale che si aggrava col tempo e una drastica riduzione della produzione a causa della scarsità dei frutti. Questi sono asimmetrici, scarsamente colorati e, a maturazione, risultano anormalmente duri, malformati e di sapore amaro. Frequentemente le piante infette muoiono entro pochi anni dal primo manifestarsi dei sintomi. L'infezione interferisce con il metabolismo dell'amido e di altri zuccheri nelle foglie e nei frutti, sia nei soggetti giovani che adulti, alterandone l'attività ormonale.

Di HLB sono note due diverse forme: quella africana, trasmessa dalla psilla *Trioza erytreae*, che teme il caldo e si sviluppa a temperature di 22-25°C, e la forma asiatica, trasmessa da *Diaphorina citri*, un altro psillide, che invece tollera temperature superiori a 30 °C. Poiché non esistono metodi curativi di HLB, la lotta contro la malattia è preventiva e largamente basata sulla eliminazione dell'inoculo tramite rimozione delle piante infette e interventi chimici contro i vettori. Una simile strategia, malgrado i costi annui per ettaro che possono toccare i 1000 dollari US, ha permesso di tenere le infezioni di HLB sotto controllo in una delle maggiori aree produttive brasiliane, la cui industria agrumicola sembrava destinata alla scomparsa (Belasque et al., 2010).

### *Zebra chip della patata*

La Zebra chip della patata (PZC) è una affezione identificata originariamente in Messico nel 1994 e battezzata 'papa machada' (= patata maculata). Su di essa sono disponibili esaustivi saggi bibliografici (Munyanza, 2010, 2012)

cui si rimanda per una più approfondita conoscenza. PZC interessa varie specie di solanacee coltivate [patata, pomodoro, peperone (*Capsicum annuum* e *C. frutescens*) melanzana, tabacco, tomatillo (*Physalis peruviana*) e tamarillo (*Solanum betaceum*)] e spontanee e ha distribuzione geografica assai vasta, comprendente il Nord America (USA, Messico), l'America centrale (Guatemala, Honduras, Nicaragua) e l'Oceania (Nuova Zelanda). La presenza dell'agente della malattia, cui si accennerà qui di seguito, è stata accertata anche in Europa (Norvegia, Svezia, Finlandia, Francia, Spagna) ove infetta carota e sedano ma non patata e pomodoro (Anonimo, 2013).

L'agente eziologico di PZC è stato identificato in Nuova Zelanda nel batterio *Candidatus liberibacter solanacearum* (Liefting et al., 2008) e negli USA in *Candidatus liberibacter psyllaureus* (Hansen et al., 2008), specie poi sinonimizzata con la prima. Il batterio è trasmissibile per innesto e con vettori ma non attraverso il seme. Di esso sono stati identificati quattro aplotipi con diversa distribuzione geografica (Nelson et al., 2111, 2013). Due di questi, quelli denominati LsoA e LsoB, sono responsabili delle infezioni a patata e altre solanacee, mentre i rimanenti due (LsoC e LsoD) sono i patogeni ritrovati in carota. Gli aplotipi LsoA e LsoB sono trasmessi dalla psilla *Bactericera cockerelli*, sia verticalmente alla sua progenie (trasmissione transovarica) che orizzontalmente agli ospiti vegetali (solanacee) sui quali si nutre. L'aplotipo LsoC è presente in Francia, al momento su superfici limitate, e in maniera più massiccia nei paesi scandinavi (Norvegia, Svezia e Finlandia) ove è trasmesso da *Trioza apicalis* che però non si alimenta su solanacee. L'aplotipo LsoD, identificato in Spagna e nelle Canarie, ha come vettore *Bactericera trigonica*.

Le piante infette di patata e di altre solanacee manifestano sintomi che ricordano quelli indotti da fitoplasmi, quali clorosi o arrossamento, arricciamento e necrosi irregolari delle foglie, ingrossamento dei nodi sui fusti, tuberi aerei e imbrunimento del tessuto vascolare. Su patata, a livello ipogeo, si osservano: degenerazione degli stoloni, ingrossamento delle lenticelle dei tuberi, imbrunimento del tessuto vascolare, decolorazione dei raggi midollari e lesioni necrotiche sui tuberi. Questi ultimi non germogliano e, se lo fanno, le piante che ne derivano sono deboli e scarsamente produttive. I negativi effetti della malattia si riflettono soprattutto sulle sottili fette allestite per la preparazione delle patatine fritte (chips), fenomeno imputato alla conversione dell'amido contenuto nei tuberi in zuccheri idrosolubili che causa l'aspetto zebrato conferito alle "chips" dalle strisce brune che compaiono in seguito a cottura. Il danno più grave indotto da PZC deriva non tanto dalla commestibilità delle patatine, che in realtà non ne risente, ma nell'effetto estetico che le rende incommerciabili.

I sintomi su carota si manifestano con accartocciamenti fogliari accompagnati da ingiallimenti e arrossamenti, nanismo e proliferazione di radici secondarie. Le carote sono di bassa qualità e la produzione è quantitativamente ridotta. Anche il sedano è oggetto d'infezione, e ne risente a causa della proliferazione e deformazione dei germogli che lo rendono incommerciabile.

L'impatto economico annuale delle infezioni da *Ca. liberibacter solanacearum* nella Comunità Europea è stato stimato in oltre 200 milioni di euro. Un così grave danno ha giustificato la richiesta di un intervento che valga a conferire al batterio la qualifica di agente da quarantena (Soliman et al., 2013).

#### MALATTIE INDOTTE DA *CANDIDATUS PHLOMOBACTER*

##### *Clorosi marginale della fragola*

Questa affezione, identificata e descritta in Francia nel 1988, era già stata riscontrata in Spagna fin dal 1984 (Nurrisseau et al., 1993). Essa si manifesta nelle coltivazioni di fragola con un ingiallimento del margine delle foglie che appaiono più piccole della norma e acquisiscono una forma a coppa. Le radici sono interessate da estese necrosi. I frutti sono incommerciabili perché piccoli, deformi e acidi. La malattia si diffonde rapidamente nelle colture sia di campo che sotto tunnel di plastica. L'agente è stato identificato in un  $\gamma$ -proteobatterio non coltivabile (Zreik et al., 1998) che si localizza nel floema delle piante infette e viene trasmesso da *Cixius wagneri*, una cicalina floemomiza della famiglia Cixiidae (Danet et al., 2003; Salar et al., 2009). La malattia è stata segnalata anche in Giappone (Tanaka et al., 2006).

##### *Sindrome da basso contenuto in zucchero della barbabietola*

La sindrome "bassess richesses" della barbabietola da zucchero è una malattia emergente anch'essa segnalata in Francia (Richard-Molard et al., 1995), poi in Germania. I sintomi, che compaiono nella tarda estate poco prima della raccolta, consistono in vistosi ingiallimenti delle foglie vecchie che si incurvano, mentre si produce una nuova crescita di foglie centrali che appaiono clorotiche, lanceolate e asimmetriche. I fasci vascolari delle radici appaiono imbruniti, e il contenuto di zucchero subisce una diminuzione del 2-4%. L'agente della malattia è un  $\gamma$ -proteobatterio non coltivabile, denominato *Can-*

*didatus* Arsenophonus phytopathogenicus, che è filogeneticamente correlato con *Candidatus* Phlomobacter fragariae, e trasmesso in natura sia dalla cicadina cixiide *Pentastiridius leporinus* che, in minor misura, da *Cixius wagneri* (Sémétéy et al., 2006; Bressan et al., 2007, 2011).

#### MALATTIE INDOTTE DA XYLELLA

##### *Malattia di Pierce della vite*

La malattia di Pierce (PD), una affezione della vite riscontrata in California alla fine del 1800, è ora diffusa in altri Stati dell'Unione, nonché nei Paesi del golfo del Messico, America Centrale, e nella parte nord del Sud America. Una segnalazione al di fuori di questa area geografica, ancorché non confermata, è venuta dal Kosovo (Berisha et al., 1998) e più di recente, e anch'essa meritevole di conferma, dall'Iran (Amanifar et al., 2014). La genesi della PD è stata per ben oltre un secolo attribuita a una infezione virale in virtù del comportamento epidemiologico (trasmissione tramite insetti) analogo a quello dei virus e che solo dopo molti anni si è scoperto essere comune anche a batteri di tipo particolare (*Candidatus* Liberibacter, *Candidatus* Phlomobacter, *Xylella*). Nella seconda metà del 1900, furono individuate, con l'ausilio della microscopia elettronica, cellule batteriche con una parete caratteristicamente corrugata all'interno dei vasi legnosi di piante infette. I tentativi d'isolamento, lunghi e laboriosi, ebbero successo e al microrganismo Gram-negativo ottenuto in coltura axenica, fu conferito il nome generico di *Xylella*, per la sua collocazione xilematica, e l'epiteto specifico di *fastidiosa* per le difficoltà incontrate nel suo isolamento in purezza (Wells et al., 1987). È di Purcell (2013) un esauriente excursus storico sui progressi degli studi condotti nel tempo su *X. fastidiosa*.

La PD è una malattia distruttiva, tanto più grave quanto più favorevoli allo sviluppo e alla sopravvivenza del suo agente sono le condizioni climatiche (temperatura in particolare). In California, ad esempio, è molto più difficile difendersi dalla PD nel sud dello Stato (in aree a clima tropicale è pressoché impossibile coltivare la vite, la cui sopravvivenza di rado supera l'anno) che nel nord dello stesso (Napa Valley), ove gli agricoltori riescono a convivere con essa, che viene tenuta a freno dai freddi invernali. Le nuove infezioni avvengono in primavera e sono mediate dai vettori che si sono nutriti su uno dei tanti ospiti alternativi infetti. I sintomi, che compaiono all'inizio dell'estate e si acuiscono col passare del tempo, sono caratterizzati dalla comparsa

di ingiallimenti sulle foglie delle cultivar a uva bianca e arrossamenti su quelle a uva nera, accompagnati da disseccamenti marginali che progressivamente si accentuano e si approfondiscono. Le foglie sintomatiche cadono prematuramente e, contrariamente alla norma, si disarticolano alla inserzione del picciolo sulla lamina, tanto che i tralci spogli conservano caratteristicamente i piccioli fogliari durante l'inverno. I sarmenti maturano in modo irregolare, conservando ampie isole di tessuto verde. Ciò pone le piante in condizioni di suscettibilità ai freddi invernali che possono ucciderle. Le viti colpite non di rado muoiono nel primo anno dopo l'infezione. Quelle sopravvissute, cronicamente infette, ritardano la ripresa primaverile, sviluppano una vegetazione stentata e sono poco o punto produttive.

Ospiti naturali dell'agente della PD sono un gran numero di mono- e dicotiledoni spesso totalmente asintomatiche, che si trovano all'interno o nei pressi dei vigneti. Queste rappresentano la fonte d'inoculo naturale da cui si approvvigionano i vettori, anch'essi assai numerosi, che appartengono in larga misura alle famiglie Cicadellidae e Cercopidae. Mentre in California le fonti d'infezione sono poste al di fuori del vigneto e da queste i vettori trasferiscono la *Xylella* alle viti, in Florida prevale la trasmissione da vite a vite. Anche in alcune aree Californiane meridionali, comunque, si verificano comportamenti epidemiologici analoghi da quando è stata introdotta *Homalodisca vitripennis*, una cicalina di grosse dimensioni (12 mm), forte volatrice, dotata di stiletto tanto robusto da permetterle di nutrirsi sui tralci lignificati di vite dai quali può acquisire il batterio, anche in inverno, per poi trasferirlo ad altre viti.

### *Clorosi variegata degli agrumi*

La clorosi variegata (CVC) è una affezione degli agrumi comparsa in Brasile in alcuni agrumeti dello stato di San Paolo alla fine degli anni '80 del secolo scorso (Lee et al., 1991). Nel giro di una manciata di anni, essa si è diffusa su estensioni assai più vaste, interessando anche i vivai, ed è poi passata in Argentina, Paraguay e Costa Rica. La malattia si presenta con decolorazioni fogliari (clorosi internervali e marginali) che ricordano dappresso quelle conseguenti alla carenza di zinco. I sintomi sono ben evidenti sulle foglie più vecchie ma iniziano la comparsa su quelle giovani, intensificandosi con la loro maturazione. Nelle piante infettate di recente le manifestazioni clorotiche interessano un settore della chioma per poi diffondersi al resto di essa col passare del tempo. Mano a mano che le foglie invecchiano, piccole lesio-

ni brunastre con essudato gommoso compaiono sulla loro pagina inferiore in corrispondenza delle aree clorotiche presenti sulla pagina superiore. Col tempo, le lesioni brunastre acquistano una colorazione più scura e appaiono rilevate a causa dell'accumulo di gomma. I frutti maturano precocemente e, benché siano più zuccherini della norma, sono incommerciabili a causa della buccia assai spessa e delle dimensioni ridotte. I sintomi di CVC sono più gravi in presenza di temperature elevate e di scarsa piovosità. In molte delle zone caratterizzate da queste condizioni climatiche gli impianti agrumicoli sono stati divelti.

CVC si trasmette artificialmente per innesto e, in natura, mediante occasionali innesti radicali (He et al., 2000) e vettori. In Brasile, questi ultimi sono stati identificati in *Acrogonia citrina*, *Bucephalogonia xanthopsis*, *Dilobopterus costalimai* e *Oncometopia facialis*, cicaline delle famiglie Cercopidae e Cicadellidae che effettuano la trasmissione da agrume ad agrume (Almeida et al., 2014). Negli USA, invece, vettori sperimentali sono stati individuati in *H. vitripennis* e *Oncometopia nigricans* (Brlansky et al., 1993).

La natura di CVC non è rimasta ignota a lungo. Tra le ipotesi eziologiche si era dapprima pensato a un nuovo virus o a una delle specie di *Candidatus liberibacter*, più che a *Xylella fastidiosa* di cui mancava la "firma": le bruscature fogliari che ne sono il sintomo più costante e caratteristico. Ancora una volta è stata la microscopia elettronica a venire in aiuto (Brlansky et al., 1993). La lotta a CVC si conduce con una serie integrata di interventi che prevedono l'uso di materiale certificato per l'impianto degli agrumeti, lotta ai vettori con insetticidi sistemici (vivaio e giovani impianti commerciali) o di contatto (impianti di età superiore ai 3 anni), rimozione dei rami o branche alla prima comparsa dei sintomi, che sembra particolarmente efficace su piante di almeno 3 anni di età (Almeida et al., 2013). Non si conoscono fonti di resistenza, a eccezione della Navelina ISA 315 una cultivar che non mostra sintomi se non assai lievi, e nella quale il batterio si moltiplica molto poco (Fadel et al., 2014).

### *Phony peach (pesca fasulla)*

È una malattia nota negli USA sin dalla fine dell'800 che, a causa dal raccorciamento degli internodi, si manifesta alla ripresa vegetativa con una maggiore compattezza della chioma, la quale è anche più frondosa del normale e ha foglie di colore verde più intenso e scuro. La fioritura è anticipata e la caduta delle foglie ritardata. La fruttificazione è scarsa e i frutti sono più piccoli della



norma e di qualità inferiore. Le piante infettate precocemente sono del tutto sterili. L'agente della malattia è un ceppo di *X. fastidiosa* sottospecie *multiplex* trasmesso da *H. vitripennis* (Wells et al., 1981; Mizell e French, 1987).

### *Brusca fogliare delle drupacee e delle essenze forestali*

Al contrario del pesco, che reagisce come su descritto agli attacchi di *X. fastidiosa*, altre drupacee (mandorlo, ciliegio, prugno) e molte essenze forestali (una ventina di specie diverse di querce) e alberi da ombra (platano, bagolaro, acero) rispondono con disseccamenti apicali e/o marginali delle foglie che possono essere tanto diffusi e gravi da conferire alle piante infette un aspetto intensamente bruscato (Sherald e Kostka, 1992).

### *Disseccamento rapido dell'olivo*

È questa una malattia che è comparsa nel Salento leccese qualche anno addietro e di cui si parla estesamente in questo Quaderno, nei contributi a cura di D. Boscia e F. Porcelli, cui si rimanda per gli approfondimenti. L'affezione si manifesta con bruscature delle foglie e disseccamenti locali dei rami, distribuiti a caso sulla chioma che, col tempo, si estendono al resto di essa, conferendole un aspetto "abbruciacciato". A ciò segue il deperimento ed eventualmente la morte delle piante. Analoghe manifestazioni sintomatologiche su olivo sono state osservate in USA (California) (Krugner et al., 2014) e Argentina (M.L. Otero, comunicazione personale), Paesi in cui, come in Italia, sui soggetti colpiti è stata riscontrata la presenza di *X. fastidiosa* delle sottospecie *multiplex* (USA), *pauca* (Argentina) e di una variante molecolare di *pauca* identica a un ceppo costaricano del batterio (Italia). Il ceppo salentino è stato isolato in coltura, il suo genoma è stato sequenziato ed è in fase di assemblaggio, e il principale vettore, se non l'unico, è stato individuato in *Philaenus spumarius*, una cicalina assai diffusa nella zona. Le risultanze delle osservazioni a tutt'oggi condotte fanno ritenere che l'olivo sia una importante fonte d'inoculo, ma non la sola. Infezioni sono state infatti riscontrate su essenze pluriennali legnose (mandorlo, ciliegio) e arbustive (oleandro, poligala, acacia, ginestra, westringia) più che su piante annuali erbacee, come ci si sarebbe potuto attendere in base alle notizie bibliografiche.

La diffusione della *Xylella* in larghe aree del leccese e la sua presenza su una gamma di ospiti di non poco rilievo portano a concludere che il patoge-

no si sia ormai insediato nel territorio tanto tenacemente da essere non più eradicabile. Le operazioni di contenimento previste, su cui riferiscono in questo Quaderno B. Faraglia e A. Guario sono basate su abbattimenti mirati di olivi infetti, distruzione delle fonti d'inoculo alternative (decespugliamento e diserbo) e lotta chimica e agronomica (diserbo) ai vettori da effettuarsi sia all'interno della provincia di Lecce, per salvaguardare le aree ancora indenni, che in una fascia incontaminata da individuare ai confini delle province limitrofe (Brindisi e Taranto) per bloccare l'avanzata dei vettori infettivi e, con essa, quella della malattia.

#### RIASSUNTO

I batteri vascolari trasmessi da insetti cui ci si riferisce in questa nota fanno capo alle categorie tassonomiche *Xylella*, *Candidatus liberibacter*, *Candidatus phlomobacter* e *Candidatus Arsenophonus phytopathogenicus*. *Xylella fastidiosa*, con le sue quattro sottospecie (*fastidiosa*, *multiplex*, *sandyi* e *pauca*), è un batterio Gram-negativo che vive all'interno dei vasi legnosi degli ospiti dai quali è acquisito da insetti xilemomizi che lo trasferiscono ad altre piante. Le malattie che esso provoca sono per lo più caratterizzate da necrosi marginali delle foglie (brusca) e disseccamenti variamente estesi della chioma, cui può seguire la morte dei soggetti affetti. Esempi di malattie indotte da *X. fastidiosa* sono la malattia di Pierce della vite, la clorosi variegata degli agrumi e il disseccamento rapido dell'olivo di recente osservato in Italia. Tutti i *Candidatus* sono anch'essi batteri Gram negativi. I *Candidatus liberibacter* sono agenti di malattie degli agrumi (Huanglongbing), solanacee ("Zebra chip" della patata) e apiacee (carota e sedano), mentre *Candidatus phlomobacter* e *Candidatus Arsenophonus phytopathogenicus* sono stati identificati, rispettivamente, come patogeni della fragola e barbabietola da zucchero. Questi ultimi tre tipi di batteri dimorano nei vasi cribrosi (floema) e, pertanto, hanno come vettori insetti floemomizi. I *Candidatus liberibacter* hanno un'ampia distribuzione geografica, mentre *Candidatus phlomobacter* e *Candidatus Arsenophonus phytopathogenicus* sembrano per il momento limitati essenzialmente all'Europa (Francia in particolare).

#### ABSTRACT

The vascular-colonizing bacteria dealt with in this paper belong to the taxa *Xylella*, *Candidatus liberibacter*, *Candidatus phlomobacter* and *Candidatus arsenophorus phytopathogenicus*. Four subspecies are known of *Xyella fastidiosa* (*Xf. fastidiosa*, *multiplex*, *sandyi* and *pauca*) which is a xylem-limited Gram-negative bacterium, acquired by xylem-feeding leafhoppers for transmission to other hosts. *Xylella*-induced diseases are largely characterized by necrotic reactions of the leaves (scorching) and desiccation of twigs and branches that may bring the affected plants to death. Examples of *X. fastidiosa*-induced disorders are Pierce's disease of the grapevine, citrus infectious chlorosis and the olive decline syndrome recently observed in Italy. All the *Candidatus* species referred to in this

article are also Gram-negative bacteria which, by and large, have not yet been isolated in axenic culture, except for *Liberibacter crescens*, a non pathogenic species. Pathogenic *Candidatus liberibacter*s are agents of diseases of citrus (Huanglongbing), solanaceous plants (Zebra chip of potato) and vegetables of the family Apiaceae (carrot and celery). *Candidatus phlomobacter* and *Candidatus Arsenophonus* phytopathogenicus have been identified as pathogens of strawberry and sugarbeet, respectively. These last three types of bacteria are restricted to the phloem from which they are acquired by phloem sap-feeder insects. Representatives of *Ca. liberibacter* have a wide geographical distribution whereas, at the present status of knowledge, *Ca. phlomobacter* and *Ca. Arsenophonus* phytopathogenicus seem to occur only in Europe, France in particular.

#### BIBLIOGRAFIA

- ALMEIDA R.P.P., COLETTA-FILHO H., LOPES J.R.S. (2013): *Xylella fastidiosa*, in D. Liu (ed.), *Manual of Security Sensitive Microbes and Toxins*, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 841-850.
- ALMEIDA R.P.P., RETCHLESS A.C. (2013): *Xylella fastidiosa diversity*, "Proceedings International Symposium on Insect Vectors and Insect-borne Diseases", Taiwan, pp. 107-116.
- AMANIFAR N., TAGHAVI M., IZADPANAH K., BABAEI G. (2014): *Isolation and pathogenicity of Xylella fastidiosa from grapevine and almond in Iran*, «Phytopathologia Mediterranea», 53, pp. 1625.
- ANONIMO (2013): *Candidatus liberibacter solanaceum*, «OEPP/EPPO Bulletin», 43, pp. 197-201.
- BELASQUE J., BASSANEZI R.B., YAMAMOTO P.T., AYRES A.J., TACHIBANA A., VIOLANTE A.R., TANK A. JR., DI GIORGI F., TERSI F.E.A., MENENEZ G.M., DAGRONE J., JANK R.H. JR., BOVÉ J.M. (2010): *Lessons from Huanglongbing management in São Paulo State, Brazil*, «Journal of Plant Pathology», 92, pp. 285-302.
- BERISHA B., CHEN Y.D., ZHANG G.Y., XU B.Y., CHEN T.A. (1998): *Isolation of Pierce's disease bacteria from grapevines in Europe*, «European Journal of Plant Pathology», 104, pp. 427-433.
- BOVÉ J.M. (2006): *Huanglongbing, a destructive, newly emerging, century-old disease of citrus*, «Journal of Plant Pathology», 88, pp. 7-37.
- BRESSAN A., SÉMÉTEY O., NUSILLARD B., BOUDON-PADIEU E. (2007): *The syndrome "basses richesses" of sugar beet in France is associated with different pathogen types and insect vectors*, «Bulletin of Insectology», 60, pp. 395-396.
- BRESSAN A., MORAL.GARCIA F.J., BOUDON-PADIEU E. (2011): *The prevalence of Candidatus Arsenophonus phytopathogenicus infecting the planthopper Pentastiridius leporinus (Hemiptera: Cixiidae) increases nonlinearly with the population abundance in sugar beet fields*, «Environmental Entomology», 40, pp. 1345-1352.
- BRLANSKY R.H., DAVIS C.I., LEE R.F., TIMMER I.W. (1993): *Immunogold localization of xylem-inhabiting bacteria affecting citrus in Argentina and Brazil*, "Proceedings 12th Conference of the International Organization of Citrus Virologists, Riverside, USA", pp. 311-319.
- BRLANSKY R.H., DAMSTEEGT V.D., HRTUNG J.S. (2002): *Transmission of the Citrus var-*

- iegated chlorosis bacterium* *Xylella fastidiosa* with the sharpshooter *Oncometopia nigricans*, «Plant Disease», 86, pp. 1237-1239.
- CHATTERJEE S., ALMEIDA R.P.P., LINDOW S. (2008): *Living in two worlds: the plant and insect lifestyles of Xylella fastidiosa*, «Annual Review of Phytopathology», 46, pp. 243-271.
- CONTALDO N., BERTACCINI A., PALTRINIERI S., WINDSOR H. M., WINDSOR G.D. (2012): *Axenic culture of plant pathogenic phytoplasmas*, «Phytopathologia Mediterranea», 51, pp. 607-617.
- DAMSTEEGT V.D., BRLANSKY R.H., PHILLIPS P.A., ROY A. (2006): *Transmission of Xylella fastidiosa, causal agent of citrus variegated chlorosis, by the glassy-winged sharpshooter, Homalodisca coagulata*, «Plant Disease», 90, pp. 567-570.
- DANET J.L., FOISSAC X., ZREIK L., SALAR P., VERDIN E., NOURRISSEAU J.G., GARNIER M. (2003): «*Candidatus Phlomobacter fragariae* is the prevalent agent of marginal chlorosis of strawberry in French production fields and is transmitted by the planthopper *Cixius wagneri* (China), «Phytopathology», 93, pp. 644-649.
- FADEL A.L., SANCHEZ STUCHI E., ALVES DE CARVALHO S., FEDERICI M.T., COLETTA-FILHO H. (2014): *Navelina ISA 315: a cultivar resistant to citrus variegated chlorosis*, «Crop Protection», 64, pp. 115-121.
- FAGEN J., LEONARD M.T., MCCULLOUGH C.M., TRIPLETT E.W., DAVIS M.J. (2012): *Liberibacter crescens* *gen. nov; sp. nov. first cultured member of the Liberibacter genus*, «International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology», 7, pp. 271-283.
- HANSEN A.K., TRUMBLE J.T., STOUTHAMER R., PAINE T.D. (2008): *A new huanglongbing species, 'Candidatus liberibacter psyllaurus' found to infect tomato and potato, is vectored by the Psyllid Bactericera cockerelli* (Sulc.), «Applied and Environmental Microbiology», 74, pp. 5862-5865.
- HE C.X., LI W.B., AYRES A.J., HARTUNG J.S., MIRANDA V.S, TEXEIRA D.C. (2000): *Distribution of Xylella fastidiosa in citrus rootstocks and transmission of citrus variegated chlorosis between sweet orange plants through natural root grafts*, «Plant Disease», 84, pp. 622-626.
- HOPKINS D.L. (1989): *Xylella fastidiosa: xylem-limited bacterial pathogen of plants*, «Annual Review Phytopathology», 27, pp. 271-290.
- KILLINY N., ALMEIDA R.P.P. (2014): *Factors affecting the initial adhesion and retention of the plant pathogen Xylella fastidiosa in the foregut of an insect vector*, «Applied and Environmental Microbiology», 80, pp. 420-426.
- KRUGNER R., SISTERON M.S., CHEN J., STENGER D.C., JOHNSON M.W. (2014): *Evaluation of olive as a host of Xylella fastidiosa and associated sharpshooter vectors*, «Plant Disease», 98 (<http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-01-14-0014-RE>).
- I GEORGOFILI (2008): *Fitoplasmii e fitoplasmosi di Vite, Pomacee e Drupacee*, «I Georgofili. Quaderni», 2006-VIII, 122 pp.
- LEE R.F., DERRICK K.S., BERETTA M.J.G., CHAGAS C.M., ROSSETTI V. (1991): *Citrus variegated chlorosis: a new destructive disease of citrus in Brazil*, «Citrus Industry», 72, pp. 12-15.
- LIEFTING L.W., PEREZ-EGUSQUIZA Z.C., CLOVER G.R.G., ANDERSON J.A.D. (2008): *A new 'Candidatus liberibacter' species in Solanum tuberosum in New Zealand*, «Plant Disease», 92, pp. 1474.
- MIZELL R.F., FRENCH W.J. (1987): *Leafhopper vectors of phony peach disease: feeding site preference and survival on infected and uninfected peach, and seasonal response to selected host plants*, «Journal of Entomological Science», 22, pp. 11-22.

- MUNYANEZA J.E. (2010): *Psyllids as vectors of emerging bacterial diseases of annual crops*, «Southwestern Entomologist», 35, pp. 417-477.
- MUNYANEZA J.E. (2012): *Zebra chip disease of potato: biology, epidemiology and management*, «American Journal of Potato Research», 89, pp. 329-359.
- NELSON W.R., FISHER T.W., MUNYANEZA J.E. (2011): *Haplotypes of Candidatus Liberibacter solanacearum suggest long-standing separation*, «European Journal of Plant Pathology», 130, pp. 5-12.
- NELSON W.R., SENGODA V.G., ALFARO-FERNANDEZ A. O., FONT M. I., CROSSLIN J. M., MUNYANEZA J.E. (2013): *A new aploptype of Candidatus Liberibacter solanacearum identified in the Mediterrean region*, «European Journal of Plant Pathology», 135, pp. 633-639.
- NELSON W.R., MUNYANEZA J.E., MCCUE K.F., BOVÉ J.M. (2013): *The Pangaeen origin of "Candidatus liberibacter" species*, «Journal of Plant Pathology», pp. 465-461.
- NUNNEY L., VICKERMAN D.B., BROMLEY R.E., RUSSEL S.A., HARTMAN J.R., MORANO L.D., STOUTHAMER R. (2013): *Recent evolutionary radiation and host plant specialization of the Xylella fastidiosa subspecies native to the United States*, «Applied and Environmental Microbiology», 79, pp. 2189-2200.
- NURRISSEAU J.J., LANSAC M., GARNIER M. (1993): *Marginal chlorosis, a new disease of strawberries associated with a bacteriumlike organism*, «Plant Disease», 77, pp. 1055-1059.
- PURCELL A.H., FINLAY A.H., MCLEAN D.L. (1979): *Pierce's disease bacterium: mechanism of transmission by leafhopper vectors*, «Science», 206, pp. 839-841.
- PURCELL A.H., (2013): *Paradigms: Examples from the bacterium Xylella fastidiosa*, «Annual Review of Phytopathology», 51, pp. 339-356.
- RADDADI N., GONELLA E., CAMEROTA C., PIZZINIAT A., TEDESCHI R., CROTTI E., MANDRIOLI M., BIANCO P.A., DAFFONCHIO D., ALMA A. (2001): *Candidatus Liberibacter europaeus, sp. npv.that is associated with and transmited by the psyllod Cacopsilla pyri apparently behaves as an endophyte rather than a pathogen*, «Environmental Microbiology», 13, pp. 414-426.
- REDAK R.A., PURCELL A.H., LOPES J.R.S., BLUA M.J., MIZELL R.F. III, ANDERSEN P.C. (2004): *The biology of xylem fluid-feeding insect vectors of Xylella fastidiosa and their relation to disease epidemiology*, «Annual Review Entomology», 49, pp. 243-270.
- RICHARD-MOLARD M., GARRESSUS S., MALATESTA G., ORNY G., VALENTIN P., REINBOLD C., GERST M., BLECH F., FONNE G., PUTZ C., GROUSSON C., BOUDON-PADIEU E. (1995): *Le syndrome des basses richesses: investigations au champ et tentatives d'identification de l'agent pathogène et du vecteur*, «Proceedings 58th International Beet Research Congress, Dijon-Beaune, France», pp. 299-309.
- SALAR P., DANET J.L., POMMIER J.J., FOISSAC X. (2009): *The biology of Cixus wagneri, the planhopper vector of Candidatus Phlomobacter fragariae in strawberry production tunnels and its consequence for the epidemiology of strawberry marginal chlorosis*, "21<sup>st</sup> International Conference on Virus and other Graft Trasmissible Diseases of Fruit Crops", Neustadt, Germany, pp. 24-26.
- SAPONARI M., BOSCIA D., NIGRO. F., MARTELLI G.P. (2013): *Identifcation of DNA sequences related to Xylella fastidiosa in oleander, almond and olive trees exhibiting leaf scorch symptoms in Apulia (southern Italy)*, «Jounal of Plant Pathology», 95, pp. 668.
- SCHAAD N.W., POSTNIKOVA E., LACY G., FATMI M., CHANG C.J. (2004): *Xylella fastidiosa subspecies: X. fastidiosa subsp. piercei, subsp nov., X. fastidiosa subsp. multiplex subsp. nov. and X. fastidiosa subsp. pauca subsp. nov.*, «Systematic and Applied Microbiology», 27, pp. 290-300.

- SECOR G.A., RIVERA V. (2009): *Association of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' with Zebra Chip disease of potato established by graft and psyllid transmission, electron microscopy, and PCR*, «Plant Disease», 93, pp. 574-583.
- SÉMÉTEY O., GATINEAU F., BRESSAN A., BOUDON-PADIEU E. (2006): *Characterization of a  $\gamma$ -3 proteobacterium responsible for the syndrome "Basses Richesses" of sugar beet transmitted by Pentastiridius sp. (Hemiptera, Cixiidae)*, «Phytopathology», 97, pp. 72-78.
- SHERALD J.L., KOSTKA S.J. (1992): *Bacterial leaf scorch of landscape trees caused by X. fastidiosa*, «Journal of Arboriculture», 18, pp. 57-63.
- SOLIMAN T., MOURITS M. C. M., OUDE LANSINK A. G. J. M., VAN DER WERF W. (2013): *Economic justification for quarantine status - the case study of Candidatus liberibacter solanacearum in the European Union*, «Plant Pathology», 62, pp. 1106-1113.
- SU C.C., CHANG C.J., YANG W.S., HSU S.T., TZENG K. C., JAN F.J., DENG W.L. (2012): *Specific characters of 16S rRNA and 16S-23S rRNA internal transcribed spacer sequences of Xylella fastidiosa pear leaf scorch strain*, «European Journal of Plant Pathology», 132, pp. 203-216.
- TANAKA M., NAO M., USUGI T. (2006): *Occurrence of strawberry marginal chlorosis caused by "Candidatus Phlomobacter fragariae" in Japan*, «Journal of General Plant Pathology», 76, pp. 374-377.
- WEINTRAUB P.G., JONES P. (2010): *Phytoplasmas. Genomes, Plant Hosts and Vectors*, CABI, Wallingford (UK). 331 pp.
- WELLS J.M., RAJU B.C., THOMPSON J.M., LOWE S.K. (1981): *Etiology of phony peach and plum leaf scald disease*, «Phytopathology», 71, pp. 1156-1161.
- WELLS J.M., RAJU B.C., HUNG H.Y., WEISBURG W.G., MANDELCO-PAUL L., BRENNER D.J. (1987): *Xylella fastidiosa gen. nov., sp. nov.: Gram-negative xylem limited fastidious plant bacteria related to Xanthomonas spp.*, «International Journal of Systematic Microbiology», 37, pp. 136-143.
- ZREIK L., BOVÈ J.M., GARNIER M. (1998): *Phylogenetic characterization of the bacterium-like organism associated with marginal chlorosis of strawberry and proposition of a Candidatus taxon for the organism: Candidatus Phlomobacter fragariae*, «International Journal of Systematic Bacteriology», 48, pp. 257-261.

## Insetti vettori di batteri floematici e xilematici

### INSETTI VETTORI DI BATTERI FLOEMATICI

Il genere *Liberibacter* comprende un gruppo di batteri fitopatogeni trasmessi da insetti di primaria importanza per diverse colture frutticole e ortive. Questi batteri Gram-negativi sono localizzati nel floema delle piante ospiti e sono incoltivabili, a eccezione di *Liberibacter crescens*, isolato da papaya (Leonard et al., 2012).

La malattia più importante tra quelle causate da *liberibacter* è detta Huanglongbing (HLB, termine cinese per indicare “la malattia del drago giallo”), legata a diverse specie in questo genere (Bové, 2006). L’HLB è diffuso nelle principali aree di coltivazione di agrumi in Asia, Africa, Nord e Sud America. I sintomi di questa malattia (ingiallimento fogliare con andamento a macchia e presenza di isole verdi, deperimento di germogli e rami, frutti di ridotte dimensioni e scarsa colorazione) possono condurre a perdite produttive del 30-100% (Aubert, 1993; Wang e Trivedi, 2013), con gravi conseguenze per il settore della produzione di agrumi.

Gli agenti eziologici, patogeni da quarantena in Europa, appartengono alle specie ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’, ‘*Ca. L. africanus*’ e ‘*Ca. L. americanus*’. Mentre la presenza di ‘*Ca. L. africanus*’ è limitata al continente africano, ‘*Ca. L. asiaticus*’, pur essendo stato inizialmente descritto in Asia, è stato riscontrato anche nelle Americhe, così come ‘*Ca. L. americanus*’ (Teixeira et al., 2005; Lopes et al., 2009). Queste tre specie, oltre a essere distinte sulla base della similarità di sequenza del gene 16SrRNA, presentano caratteristiche diverse in relazione alla tolleranza al calore: ‘*Ca. L. asiaticus*’ è in grado

\* Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università di Torino

di sopportare temperature sopra i 30°C, mentre ‘*Ca. L. africanus*’ e ‘*Ca. L. americanus*’ sono termosensibili (Janse, 2012).

Questi microrganismi sono trasmessi da pianta a pianta da psille, e in particolare dalla psilla asiatica degli agrumi *Diaphorina citri* Kuwayama e dalla psilla africana *Trioza erytreae* (Del Guercio). *D. citri* trasmette ‘*Ca. L. asiaticus*’ in Asia, suo areale di origine, e in America, dove è comparsa dagli anni ’90 (Hall et al., 2013), inoltre trasmette ‘*Ca. L. americanus*’ in America. *T. erytreae* è il vettore di ‘*Ca. L. africanus*’, sebbene in condizioni sperimentali possa trasmettere anche ‘*Ca. L. asiaticus*’ (Massonie et al., 1976). La maggior parte degli studi in merito alla relazione patogeno-vettore è stata condotta sulla specie più diffusa, ‘*Ca. L. asiaticus*’. Entrambi i vettori trasmettono questo patogeno in maniera persistente, tuttavia *D. citri* è stata dimostrata essere la più efficiente, in quanto capace di acquisire ‘*Ca. L. asiaticus*’ più efficacemente, di acquisire anche durante gli ultimi stadi giovanili, e di trasmettere sia come ninfa che come adulto (Xu et al., 1988). Oltre al trasferimento da pianta a pianta, ‘*Ca. L. asiaticus*’ può essere trasmesso verticalmente alla progenie (Pelz-Stelinski et al., 2010) e orizzontalmente tramite trasmissione venerea da maschio a femmina (Mann et al., 2011).

Oltre ai liberibacter agenti causali di HLB, un’altra specie in questo gruppo di batteri, ‘*Ca. L. solanacearum*’, è un importante patogeno in quanto è l’agente causale di giallumi delle solanacee e di una malattia chiamata “Zebra chip” su patata, registrate in Nuova Zelanda e in America, mentre in Europa è stato segnalato su carota e su sedano (Hansen et al., 2008; Abad et al., 2009; Liefiting et al., 2009; Munyaneza et al., 2012; Nelson et al., 2013; Loiseau et al., 2014; Teresani et al., 2014). La psilla vettore di ‘*Ca. L. solanacearum*’ alle solanacee è *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hansen et al., 2008); i ceppi del patogeno che attaccano la carota e il sedano sono invece associati ai vettori *Bactericera trigonica* Hodkinson e *Trioza apicalis* Förster (Munyaneza et al., 2010; Nelson et al., 2013). Nonostante ‘*Ca. L. solanacearum*’ sia stato dimostrato influenzare negativamente la fecondità dell’insetto (Nachappa et al., 2014), questo patogeno è frequentemente riscontrato nelle psille ospiti, poiché può essere trasmesso verticalmente alla progenie, oltre che orizzontalmente (Hansen et al., 2008).

In Europa, oltre a ‘*Ca. L. solanacearum*’, una nuova specie è stata recentemente segnalata in associazione a *Cacopsylla pyri* (L.) (Raddadi et al., 2011). Tale specie, denominata ‘*Ca. L. europaeus*’, presenta nelle popolazioni di *C. pyri* elevati tassi di infezione e un alto titolo negli individui infetti. Inoltre è stato dimostrato come la psilla sia in grado di trasmettere efficacemente il microrganismo al pero. Tuttavia, la presenza di ‘*Ca. L. europaeus*’ non è



stata correlata alla presenza di sintomi nelle piante ospiti, per cui per questo batterio è stato supposto un ruolo di endofita piuttosto che di patogeno (Raddadi et al., 2011). Indagini condotte su diverse specie di psille e sulle rispettive piante ospiti presenti in Europa e nel bacino del mediterraneo hanno permesso di dimostrare come '*Ca. L. europaeus*' sia diffuso in numerose specie nel genere *Cacopsylla* [*C. pyrisuga* (Förster), *C. pyricola* (Förster), *C. peregrina* (Förster), *C. nigrita* (Zetterstedt), *C. brevipennata* (Flor), *C. ambigua* (Förster), *C. melanoneura* (Förster), *C. affinis* (Löw)] e nelle rosacee [*Pyrus communis* L., *Malus domestica* (Borkh.), *Crataegus monogyna* (Jacquin), *Prunus spinosa* (L.), *Prunus domestica* (L.)] in Europa, confermando l'assenza di sintomi sulle piante infette (Camerota et al., 2012). Tuttavia, nonostante le rosacee non siano sintomatiche in presenza di questa specie, in altri areali e per altre piante '*Ca. L. europaeus*' può essere patogeno. In Nuova Zelanda questo microrganismo è stato ritrovato in piante di *Cytisus scoparius* (L.) sintomatiche e infestate dallo psillide *Arytainilla spartiophila* Förster, anch'esso infetto da '*Ca. L. europaeus*' (Thompson et al., 2013).

I batteri del genere *Arsenophonus* sono molto diffusi negli artropodi: è stato stimato che questo gruppo di  $\gamma$ -Proteobatteri sia presente nel 5% delle specie (Duron et al., 2008). Questi microrganismi possono svolgere ruoli molto diversi nei loro ospiti, che spaziano dalla simbiosi obbligata o facoltativa al commensalismo o alla patogenicità (Bressan, 2014). Inoltre, lo stesso genere comprende batteri patogeni per le piante a localizzazione floematica trasmessi da cixiidi.

Il primo patogeno in questo gruppo a essere stato riscontrato è il responsabile della clorosi marginale della fragola, denominato negli anni '90 del XX secolo '*Ca. Phlomobacter fragariae*' (Zreik et al., 1998), e in seguito proposto come riconducibile al genere *Arsenophonus* sensu lato (Bressan, 2014).

Il cixiide *Cixius wagneri* (China) è stato riconosciuto come vettore di questo microrganismo alla fragola in Francia, dove la clorosi marginale è stata osservata per la prima volta (Danet et al., 2004), mentre in Giappone, dove recentemente è stato individuato il patogeno in associazione alla malattia, non è al momento noto l'insetto responsabile della trasmissione (Tanaka et al., 2006).

Altro batterio fitopatogeno conosciuto nel genere *Arsenophonus* è stato identificato in Francia su barbabietola da zucchero, dove causa una malattia definita "basses richesses", che comporta una netta diminuzione del contenuto in zuccheri delle piante attaccate (Richard-Molard et al., 1995). Questo microrganismo, denominato '*Ca. Arsenophonus phytopathogenicus*', è trasmesso da *Pentastiridius leporinus* (L.) (Gatineau et al., 2002).

Sebbene dal punto di vista filogenetico '*Ca. P. fragariae*' e '*Ca. A. phytopathogenicus*' siano nettamente distinguibili come specie diverse, in alcuni casi sono state osservate sovrapposizioni nelle interazioni con insetti e piante. La flessibilità di queste associazioni, unita alla capacità dei cixiidi di adattarsi facilmente a nuovi ambienti e piante ospiti, può facilmente spiegare la sempre più frequente emergenza di nuove malattie.

In Italia '*Ca. A. phytopathogenicus*' è stato osservato in associazione a una malattia simile alla clorosi marginale su fragola (Terlizzi et al., 2007); lo stesso patogeno è stato riscontrato in *C. wagneri*, vettore di '*Ca. P. fragariae*' alla fragola. È stato dimostrato che il cixiide è capace di trasmettere alla barbabietola '*Ca. A. phytopathogenicus*', ma non '*Ca. P. fragariae*' (Bressan et al., 2008).

Inoltre, è stato dimostrato che batteri fitopatogeni nel gruppo degli *Arsenophonus* possiedono molte delle caratteristiche proprie dei microrganismi simbiotici, quali la trasmissione verticale e la presenza nei tessuti riproduttivi, l'assenza di danni alle cellule dell'insetto colonizzate e l'elevata incidenza di infezione nelle popolazioni degli ospiti (Bressan, 2014). Anche il loro ciclo biologico stagionale è prevalentemente associato all'insetto piuttosto che alla pianta (Bressan et al., 2009). Dato che molti altri organismi del genere *Arsenophonus* sono simbiotici degli insetti, il gruppo di batteri che causano malattie alle piante rappresenta un modello intermedio, probabilmente tuttora in evoluzione, tra il fitopatogeno e l'endosimbionte.

*Serratia marcescens* è un batterio gram-negativo ubiquitario che colonizza svariate e diversissime nicchie ecologiche, è conosciuto come patogeno di animali, inclusi insetti, e uomo ma un suo ceppo colonizza il floema di diverse cucurbitacee ed è agente accertato del cucurbit yellow vine disease di anguria, melone e zucca in Nord America (Bruton et al., 2003). Tale batterio è trasmesso dal coreide *Anasa tristis* (De Geer) secondo una modalità persistente propagativa non del tutto chiarita (Wayadande et al., 2005).

#### INSETTI VETTORI DI BATTERI XILEMATICI

I batteri fitopatogeni xilematici, definiti xylem-limited bacteria (XLB), sono assai poco numerosi (Purcell and Hopkins, 1996; Remenant et al., 2011) e soltanto due specie, *Xylella fastidiosa* (Wells) e *Ralstonia syzygii* (Roberts), sono trasmesse da insetti, precisamente da cicaline. Mentre *R. syzygii* infetta soltanto *Syzygium aromaticum* (l'albero dei chiodi di garofano), *X. fastidiosa* è un fitopatogeno di enorme importanza in agricoltura a causa della sua vastissima gamma di piante ospiti e delle sue caratteristiche epidemiologiche.

*X. fastidiosa* è un gammaproteobatterio della famiglia Xanthomonadaceae e il genere *Xylella* annovera la sola specie *X. fastidiosa*. La specie presenta però una sostanziale variabilità genetica tanto che almeno quattro sottospecie, ssp. *fastidiosa*, ssp. *pauca*, ssp. *multiplex* e ssp. *sandyi* sono universalmente accettate (Schaad et al., 2004; Schuenzel et al., 2005). La sottospecie più conosciuta è *fastidiosa* che è anche l'unica capace di infettare la vite, a cui causa la malattia di Pierce (Pierce's Disease; PD) (Nunney et al., 2010). Isolati della ssp. *pauca* sono responsabili della malattia degli agrumi conosciuta come citrus variegated chlorosis (CVC), mentre gli isolati delle sottospecie *multiplex* e *sandyi* sono poco caratterizzati e la loro biologia poco conosciuta. L'isolato di *X. fastidiosa* recentemente rilevato in olivo in Puglia e associato all'"Olive quick decline syndrome" (OQDS) appartiene alla ssp. *pauca* (Cariddi et al., 2014). *X. fastidiosa* è associata a fitopatie indicate come Pierce's disease (vite), alfalfa dwarf (erba medica), phony peach disease (pesco) citrus variegated chlorosis (agrumi), plum leaf scald (susino), leaf scorch (mandorlo, oleandro, olmo, caffè, quercia e acero). *X. fastidiosa* colonizza gli elementi xilematici e blocca il movimento della linfa grezza, i sintomi sono conseguenza di questa sua localizzazione e consistono in rapidi disseccamenti fogliari. La gamma di piante ospiti conosciute di *X. fastidiosa* è eccezionalmente ampia e certamente incompleta, anche perché il batterio non induce sintomi in molti dei suoi ospiti e quindi è difficilmente rintracciabile. A oggi almeno 300 specie di piante in più di 60 famiglie sono conosciute come ospiti di *X. fastidiosa* (Czwieneczek et al., 2014).

*X. fastidiosa* colonizza lo xilema ed è perciò trasmessa da insetti emitteri auchenorrhinchi xilemomizi. La trasmissione mediante insetto avviene secondo una modalità unica, che include caratteristiche della trasmissione persistente e non persistente. I cicadellidi della sottofamiglia Cicadellinae (sharpshooter) e le sputacchine della famiglia Cercopidae (spittlebugs) sono vettori della batteriosi. I vettori di *X. fastidiosa* sono capaci di inoculare il patogeno immediatamente dopo la nutrizione infettante, senza la necessità di un periodo di incubazione (come nella trasmissione non persistente), l'infettività può essere mantenuta per tutta la vita (come nella trasmissione persistente), ma non attraverso la muta (come nella trasmissione non persistente). Questa anomala modalità di trasmissione si spiega con il fatto che, nonostante l'infezione sia persistente, il batterio si localizza soltanto nella prima parte del digerente, di origine ectodermica e quindi non è circolativo. In particolare le cellule batteriche, dopo essere state acquisite dal vettore, aderiscono alle pareti del precibario, dove sono in grado di moltiplicarsi e possono essere ritenute per tutta la vita (Almeida et al., 2005). Tutti gli insetti che si nutrono della linfa grezza

contenuta nei vasi xilematici (sputacchine, cicaline, cicale) sono da considerarsi potenziali vettori di *X. fastidiosa* (Purcell, 1989; Almeida et al., 2005).

L'epidemiologia delle malattie causate da *X. fastidiosa* è molto variabile ed è il risultato di complesse interazioni biotiche e abiotiche che coinvolgono la specie vettrice (in relazione al ciclo biologico e al voltinismo, al comportamento nutrizionale, alla capacità di spostamento attivo), il genotipo del batterio (in relazione allo specifico host-range dei diversi genotipi, anche all'interno della stessa sottospecie e alla capacità di ricombinazione omologa tra ceppi differenti), le piante ospiti coltivate e spontanee (in relazione alla loro permissività alla moltiplicazione del batterio e alla loro attrattività per il vettore). Tutte queste interazioni rendono difficilmente prevedibile l'epidemiologia delle fitopatie associate a *Xylella* in nuove situazioni geografiche/climatiche/agronomiche e le conoscenze acquisite nelle associazioni batterio-vettore-pianta ospite conosciute hanno un valore limitato. Per esempio, nell'epidemiologia della PD della vite nella California settentrionale e centrale le infezioni, dovute principalmente al cicadellide *Graphocephala atropunctata*, sono di tipo primario, cioè dovute a cicaline che, infettatesi su piante ripariali, si trasferiscono successivamente su vite, soprattutto nei bordi dei vigneti adiacenti a corsi d'acqua, a cui trasmettono il batterio. In questo caso la trasmissione secondaria, da vite a vite, seppur possibile nella tarda estate e nell'autunno, ha un'importanza epidemiologica trascurabile (Hopkins e Purcell, 2002). Del tutto opposta è l'epidemiologia del CVC degli agrumi in Brasile dove, nonostante siano conosciute molte piante ospiti erbacee di *X. fastidiosa* (Lopes et al., 2003), la diffusione della malattia è dovuta principalmente a infezioni secondarie da *Citrus* a *Citrus* a opera dei cicadellidi *Bucephalogonia xanthophis* e *Dilobopterus costalimai*. L'epidemiologia della stessa fitopatia, per esempio la PD della vite, può avere caratteristiche assai diverse in presenza di diverse specie vettrici. Nel sud della California l'introduzione della specie invasiva *Homalodisca vitripennis* ha drammaticamente cambiato la diffusione della malattia perché quest'ultima specie, a differenza di *G. atropunctata*, svolge due generazioni l'anno, sverna negli agrumeti adiacenti ai vigneti raggiungendo perciò livelli di popolazione elevatissimi in vigneto (Coviella et al., 2006) e sostenendo probabilmente anche la diffusione secondaria da vite a vite (Perring et al., 2001).

Le specie vettrici di *X. fastidiosa* sono state elencate nella quasi totalità da Redak et al. (2004) che annovera 37 cicadellini e 5 sputacchine tra i vettori noti. Esistono inoltre due contributi che riportano la capacità delle cicale (Hemiptera Cicadoidea) di trasmettere *X. fastidiosa* (Paiao et al., 2002; Krell et al., 2007). Il ruolo delle cicale deve però ancora essere verificato. I dati

GRUPPO TASSONOMICO	SPECIE PIÙ IMPORTANTI	DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA	RUOLO NELLA DIFFUSIONE DI <i>X. FASTIDIOSA</i>
Cicadellidae Cicadellinae (38 specie)	<i>Bucephalogonia xanthophis</i>	Argentina, Bolivia, Brasile, Paraguay	Associata a epidemie di CVC negli agrumeti
	<i>Dilobopterus costalimai</i>	Brasile	Associata a epidemie di CVC negli agrumeti
	<i>Graphocephala atropunctata</i>	Stati Uniti e America Centrale	Associata a epidemie di PD nei vigneti della California settentrionale e centrale
	<i>Homalodisca vitripennis</i>	Stati Uniti meridionali, Messico, Polinesia Francese, Haway, Isola di Pasqua	Associata a epidemie di PD nei vigneti della California meridionale
Cercopoidea (6 specie)			Non associati a fitopatie epidemiche
Cicadoidea (2 specie)			Ruolo non confermato

Tab. 1 Vettori di *X. fastidiosa* nelle Americhe

riportati da Redak et al. (2004) si riferiscono a specie vettrici del continente americano, poiché *X. fastidiosa*, fino a tempi recenti, era limitata alle Americhe. Recentemente, l'introduzione del batterio a Taiwan (Su et al., 2013), Iran (Amanifar et al., 2014) e, purtroppo, Italia (Saponari et al., 2013) pone il problema di identificare i vettori locali di *X. fastidiosa*, soprattutto di quelle specie che sono associate alla diffusione epidemica del batterio.

I principali vettori di *X. fastidiosa* nelle Americhe sono riassunti nella tabella 1 mentre i più importanti potenziali vettori della stessa in Europa sono indicati in tabella 2. Infine in Italia, nel Salento, la sputacchina *Philaenus spumarius* è stata identificata come vettore del ceppo locale (Co.Di.RO strain) di *X. fastidiosa* (Saponari et al., 2014).

È da rimarcare che nelle Americhe tutti i principali vettori di *X. fastidiosa* sono cicadellini. In Europa questo gruppo tassonomico è assai poco rappresentato mentre le specie appartenenti ai cercopoidei (sputacchine) sono le maggiori indiziate.

In conclusione, tutti gli insetti xilemomizi sono potenziali vettori di *X. fastidiosa* ma alcune specie sono candidati più importanti a causa della loro abbondanza, ampia distribuzione e polifagia. A questo proposito è importante sottolineare che una particolare attenzione va posta nel prevenire l'introduzione della temibile *H. vitripennis*, l'unico vettore di *X. fastidiosa* che ha sinora mostrato di avere elevata capacità invasiva. Questa specie, originaria delle regioni sud-orientali degli Stati Uniti e del nord-est del Messico, ha invaso e

GRUPPO TASSONOMICO	SPECIE PIÙ IMPORTANTI	DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA	RUOLO POTENZIALE NELLA DIFFUSIONE DI X. FASTIDIOSA
Cicadellidae Cicadellinae (8 specie)	<i>Cicadella viridis</i>	Ubiquitaria in Europa	Molto comune, polifaga ma limitata ad ambienti umidi
Cercopoidea (34 specie)	<i>Aphrophora alni</i>	Ubiquitaria in Europa	Comune, polifaga
	<i>Aphrophora salicina</i>	Ubiquitaria in Europa	Comune, oligofaga
	<i>Philaenus spumarius</i>	Ubiquitaria in Europa	Molto comune, polifaga*
	<i>Cercopis vulnerata</i>	Assente nel Nord Europa	Comune, associata principalmente a piante erbacee
Cicadoidea (54 specie)	<i>Cicada orni</i>	Assente nel Nord Europa	Nessuna informazione sulla capacità di trasmissione
	<i>Cicadatra atra</i>	Balcani, Italia e Francia	Nessuna informazione sulla capacità di trasmissione
	<i>Lyristes plebejus</i>	Assente nel Nord Europa	Nessuna informazione sulla capacità di trasmissione
	<i>Cicadivetta tibialis</i>	Assente nel Nord Europa	Nessuna informazione sulla capacità di trasmissione
	<i>Tibicina haematodes</i>	Assente nel Nord Europa	Nessuna informazione sulla capacità di trasmissione
* <i>P. spumarius</i> è vettore accertato del ceppo di <i>X. fastidiosa</i> identificato nel Salento (Saponari et al., 2014)			

Tab. 2 *Potenziali vettori di X. fastidiosa in Europa*

si è insediata ad alti livelli di popolazione in California (anni '80), Polinesia Francese (1999), Haway (2004) e Isola di Pasqua (2005) (Petit et al., 2008).

Il ruolo delle cicale deve essere indagato, ma non enfatizzato prima di aver acquisito dati sperimentali certi.

#### LA LOTTA AGLI INSETTI VETTORI DI BATTERI VASCOLARI

Il controllo degli insetti vettori è inscindibile dalla lotta, o meglio dalla prevenzione, della trasmissione degli agenti fitopatogeni. Per gli insetti vettori, infatti, la trasmissione del fitopatogeno è la causa primaria di dannosità e spesso i danni diretti dovuti ai vettori sono del tutto trascurabili.

Le principali fitopatie a eziologia batterica trasmesse da insetti non sono presenti in Italia (es. Huanglongbing associato a *Liberibacter* spp.) o sono presenti in focolai di ridotta dimensione (es. Olive quick decline syndrome associato a *X. fastidiosa* nel Salento). Prevenire l'introduzione o la diffusione di questi patogeni da quarantena mediante il materiale propagativo infetto è perciò il principale e più efficace mezzo di lotta. Occorre ricordare che anche l'introduzione di vettori infetti in modo persistente (come nel caso dei vettori di batteri) può essere una via di introduzione-diffusione del patogeno. Quando il patogeno è introdotto, sarebbe in teoria auspicabile intraprendere un piano di eradicazione che però spesso non è praticabile. Per esempio l'eradicazione di *X. fastidiosa* negli areali di introduzione non è mai stata ottenuta ed è ritenuta impraticabile a causa del gran numero di piante e di insetti vettori che la possono ospitare.

Tra le misure preventive volte a ridurre la dannosità dei vettori si annoverano interventi agronomici, meccanici e fitoiatrici. Il controllo biologico dei vettori può anche avere un valido effetto coadiuvante nel contenimento delle fitopatie trasmesse ma raramente è efficace come unico metodo di lotta. La rimozione delle piante infette in campo è utile soprattutto in colture poliennali (Sisterson e Stenger, 2013), ma anche in colture annuali quando la fonte di inoculo è rappresentata dalla coltura stessa. È senz'altro auspicabile l'eliminazione delle piante infette da *X. fastidiosa*, sia coltivate che spontanee. Purtroppo però questo patogeno non induce sintomi in molte piante ospiti e quindi la rimozione delle piante infette è applicabile in pratica solo per gli ospiti sintomatici. Le piante di *Citrus* infette da HLB sono regolarmente eliminate a seguito di capillari e continui monitoraggi dei sintomi (svolti anche con l'ausilio di carrelli elevatori che permettono agli operatori una migliore visione della chioma delle piante) e milioni di piante di *Citrus* sono state rimosse per contenere l'epidemia di HLB.

Il principale mezzo di lotta meccanica contro i vettori consiste nella loro esclusione mediante l'uso di reti a maglia sufficientemente fine da impedirne l'ingresso. Naturalmente questa tecnica di difesa può essere applicata solo nelle colture protette e nei vivai. Un esempio dell'applicazione di questa tecnica è la produzione di piantine di agrumi in Brasile entro serre di rete per prevenire l'ingresso di *D. citri* vettrice di HLB. Barriere fisiche sono state sperimentate per impedire la colonizzazione dei vigneti da parte del cicadellide *H. vitripennis* in California (Blua and Redak 2003). Il principale svantaggio di questa tecnica risiede nel costo ma la stessa presenta anche il vantaggio di essere compatibile con altre metodica di lotta quali l'applicazione di insetticidi e il controllo biologico.

L'uso di insetticidi nella lotta contro gli insetti vettori al fine di prevenire la trasmissione di batteriosi è naturalmente molto diffuso, anche se non è esente da criticità. Infatti si può affermare che, oltre all'impatto sull'entomofauna utile e ai problemi tossicologici, gli insetticidi hanno spesso un'efficacia limitata perché i vettori sono in grado di trasmettere i fitopatogeni con periodi di nutrizione brevi. L'insetto, anche se avvelenato, è perciò in grado di infettare una pianta prima di morire. L'attività degli insetticidi nei riguardi dei vettori va perciò valutata in relazione allo scopo da raggiungere: essi sono generalmente efficaci nel ridurre l'entità della popolazione di un vettore infeudato alla coltura stessa (per esempio *D. citri* vettore dei *Liberibacter* associati a HLB o i cicadellini vettori di *X. fastidiosa* associata a CVC negli agrumeti del Brasile) ma sono meno efficaci nel difendere la coltura dalla trasmissione a opera di vettori provenienti da altre piante ospiti (per esempio i cicadellini vettori di *X. fastidiosa* a vite). In ogni caso le applicazioni di insetticidi, soprattutto di neonicotinoidi (cloronicotili), hanno mostrato discreti livelli di efficacia nel prevenire la diffusione dei patogeni batterici trasmessi da insetti anche nel caso di infezioni primarie (dovute a insetti che infettano la coltura provenendo dall'esterno) (Almeida et al., 2005). I neonicotinoidi sono applicati per via fogliare, radicale (fertirrigazione) o anche al tronco nel caso degli agrumi. La grande sistemicità e persistenza dei cloronicotili permette di proteggere le piante per un periodo relativamente lungo perché essi sono attivamente traslocati anche nelle foglie di nuova formazione. I fitomizi che si nutrono su piante trattate con i cloronicotili non muoiono immediatamente ma smettono molto rapidamente di nutrirsi cessando di trasmettere i patogeni. L'uso ripetuto dei neonicotinoidi rischia però di selezionare ceppi di insetti resistenti. Questa problematica è più grave per gli psillidi vettori di *Liberibacter*, che svolgono diverse generazioni l'anno, piuttosto che per la maggior parte delle cicaline vettrici di *X. fastidiosa* che sono mono- o bivoltine e quindi hanno un minor potenziale di sviluppo di popolazioni resistenti. Poiché tali insetticidi mostrano elevata persistenza e sistemicità il loro uso deve essere attentamente valutato caso per caso al fine di evitare intossicazioni di pronubi o residui troppo elevati. Altri insetticidi che possono essere convenientemente applicati per prevenire la trasmissione persistente sono pymetrozine, pyriproxifen e flonicamid; queste molecole possono eventualmente essere usate in alternanza con i neonicotinoidi per evitare l'insorgenza di ceppi resistenti.

Nell'ambito della lotta alle malattie delle piante i cui agenti causali sono trasmessi da insetti, un interessante contributo può essere fornito dallo sfruttamento dei microrganismi simbiotici dei vettori, tramite la tecnica definita controllo simbiotico (CS). Questo approccio si basa sulle conoscenze finora



acquisite sulla natura delle interazioni ospite-simbionte in numerosi modelli di interesse agrario o sanitario, che possono permettere di indirizzare la lotta direttamente agli insetti oppure al contenimento dei patogeni da loro trasmessi (Crotti et al., 2012). Per lo sviluppo di strategie di CS è necessario in primo luogo conoscere l'identità della comunità microbica associata agli insetti di interesse e la localizzazione dei simbionti nei distretti corporei dell'ospite, e successivamente studiare le caratteristiche delle interazioni simbiotiche, al fine di selezionare microrganismi utilizzabili come agenti di lotta.

I simbionti possono essere impiegati per il CS in caso siano in grado di: i) esprimere fattori di antagonismo diretto nei confronti dell'insetto o del patogeno; ii) sbilanciare le popolazioni dell'ospite tramite manipolazione riproduttiva; o iii) competere con i patogeni nella colonizzazione del corpo dell'insetto. Oltre all'esistenza di un'azione di contenimento della malattia associata all'insetto vettore, i potenziali agenti di CS devono avere dei requisiti indispensabili per la loro effettiva utilizzabilità. Questi requisiti includono la stabile associazione con l'ospite, la dominanza all'interno della comunità microbica dei singoli individui, la localizzazione negli stessi organi colonizzati dai patogeni, la facilità di coltivazione e manipolazione genetica *in vitro*, e la trasmissione verticale e/o orizzontale. Un ultimo passaggio indispensabile per la creazione di protocolli di CS è l'accurata valutazione dei rischi connessi al rilascio nell'ambiente degli agenti di controllo individuati, specialmente nel caso si preveda di utilizzare microrganismi geneticamente modificati. Oltre alla valutazione dei rischi per l'ambiente relativi all'eventuale immissione di materiale genetico modificato, è dunque necessario verificare se il simbionte selezionato sia tossico per l'artropode o per gli organismi animali e vegetali con cui questo viene in contatto, o se la sua presenza nelle comunità microbiche naturali sbilanci la loro composizione dando luogo a fenomeni di disbiosi (Alma et al., 2010).

I primi risultati legati allo sviluppo di protocolli di lotta basati sul CS sono stati ottenuti in campo medico, in particolare in merito al controllo del protozoo responsabile della malattia di Chagas, trasmesso da *Rhodnius prolixus* Stål (Durvasula et al., 1997). Tuttavia anche i vettori di patogeni delle piante sono stati oggetto di studi in questa direzione. Un interessante esempio è rappresentato dalle ricerche condotte sul modello *X. fastidiosa* - vite - *H. vitripennis*, mirate al contenimento della malattia di Pierce, che causa ingenti danni alla viticoltura in Florida e in altri Stati del sud-est degli USA. La tecnica di controllo proposta è basata sulla paratransgenesi, ossia sulla trasformazione genetica di un simbionte del vettore, al fine di renderlo incapace di trasmettere *X. fastidiosa*.

Tra i batteri endofiti della vite associati anche alla cicalina è stato selezionato un microrganismo facilmente manipolabile in vitro, *Alcaligenes xylosoxidans denitrificans*. La sua capacità di colonizzare il primo tratto intestinale di *H. vitripennis*, che ospita anche *X. fastidiosa*, è stata esaminata in seguito a nutrizione su substrato artificiale addizionato di batteri modificati (Bextine et al., 2004). Inoltre la colonizzazione di diverse piante ospiti è stata valutata in seguito all'inoculazione diretta nel vegetale (Bextine et al., 2005). I risultati di queste prove hanno dimostrato la possibilità di impiegare *A. xylosoxidans denitrificans* come agente di controllo, oltre alla praticabilità dell'impiego di un sistema di distribuzione dell'agente di CS attraverso la pianta (vite). Ulteriori studi utili allo sviluppo di protocolli di CS sono stati effettuati al fine di verificare la possibilità di ottenere un sistema di controllo di lunga durata in seguito alla prima somministrazione. Tramite PCR quantitativa su cicaline sperimentalmente infettate con un ceppo trasformato del simbionte, è stato dimostrato che anche dopo lunghi periodi *A. xylosoxidans denitrificans* può essere mantenuto da *H. vitripennis* (Ramirez et al., 2008). L'effettiva possibilità di impiego di questo microrganismo come agente di CS è stata inoltre analizzata tramite un'accurata valutazione dei rischi ambientali. L'esistenza di tossicità per le piante, alterazioni degli ospiti, trasferimento genico orizzontale a ceppi *wild type* del simbionte, o conseguenze legate all'ecologia microbica del sistema pianta, sono fattori presi in esame unitamente alla stabilità del transgene e l'effetto sul processo di vinificazione (Miller et al., 2006).

#### RIASSUNTO

Gli insetti vettori di batteri fitopatogeni sono emetteri floemomizi o xilemomizi che trasmettono i batteri con modalità persistente. I vettori di *Candidatus Liberibacter* spp., agenti causali della malattia degli agrumi detta "Huanglongbing" o di giallumi di piante ortive, sono le psille *Diaphorina citri*, *Trioza erytreae*, *Bactericera cockerelli*, *Bactericera trigonica*, *Trioza apicalis*. *Cacopsylla pyri* trasmette invece *Ca. Liberibacter europaeus*, che non induce sintomi di malattia nella pianta ospite. *Ca. Arsenophonus phytopathogenicus*, agente della malattia della bietola da zucchero "basses richesses" è trasmesso dal cixide *Pentastiridius leporinus* mentre *Serratia marcescens* agente del cucurbit yellow vine disease in Nord America è trasmessa dal coreide *Anasa tristis*. Tra i batteri fitopatogeni xilematici soltanto la specie *Xylella fastidiosa*, recentemente introdotta anche in Italia, è di grande importanza fitopatologica. La trasmissione avviene secondo una modalità unica, che include caratteristiche della trasmissione persistente e non persistente. I vettori di *X. fastidiosa* sono cicadellidi della sottofamiglia Cicadellinae e sputacchine delle famiglie Aphrophoridae e Cercopidae. Le specie europee potenziali vettrici di *X. fastidiosa* e quelle Americane vettrici accertate sono elencate. Infine le strategie di lotta ai vettori di batteri fitopatogeni sono analizzate criticamente.

## ABSTRACT

Xylem-sap feeding hemipteran insects transmit plant pathogenic bacteria in a persistent manner. The vectors of *Candidatus Liberibacter* spp., causal agents of the “Huanglong-bing” disease of citrus and of yellowing diseases of vegetable crops are the psyllids *Dialeuraphora citri*, *Trioza erytreae*, *Bactericera cockerelli*, *Bactericera trigonica*, *Trioza apicalis*. Moreover, *Cacopsylla pyri* transmits the non-pathogenic *Ca. L. europeus*. The cixiid planthopper *Pentastiridius leporinus* is the vector of *Ca. Arsenophonus* phytopathogenicus, the agent of the sugarbeet disease known as “basses richesses”. Finally, the strain of *Serratia marcescens* associated with cucurbit yellow vine disease in North America is transmitted by the heteropteran bug *Anasa tristis*. Among the xylem-limited bacteria, only *Xylella fastidiosa*, that has been recently introduced in Italy, is a very important and widespread plant pathogen. The transmission modality is peculiar because it includes characteristics of the persistent and non-persistent transmission. The xylem-sap feeders of the family Cicadellidae subfamily Cicadellinae (sharpshooters) and the spittlebugs of the families Aphrophoridae and Cercopidae (spittlebugs), are the known vectors of the bacterium. European potential vectors and American known vectors of *X. fastidiosa* are listed. The control strategies of the insect vectors of plant pathogenic bacteria are critically reviewed.

## BIBLIOGRAFIA

- ABAD J.A., BANDLA M., FRENCH-MONAR R.D., LIEFTING L.W., CLOVER G.R.G. (2009): *First report of the detection of 'Candidatus Liberibacter' species in zebra chip disease infected potato plants in the United States*, «Plant Disease», 93, p. 108.
- ALMA A., DAFFONCHIO D., GONELLA E., RADDADI N. (2010): *Microbial symbionts of Auchenorrhyncha transmitting phytoplasmas: a resource for symbiotic control of phytoplasmas*, in *Phytoplasmas: Genomes, Plant Hosts and Vectors*, Weintraub P. & Jones P. Ed., CAB International, Wallingford, UK, pp. 272-292.
- ALMEIDA R.P.P., BLUA M.J., LOPES J.R. AND PURCELL A.H. (2005): *Vector transmission of Xylella fastidiosa: Applying fundamental knowledge to generate disease management strategies*, «Annals of the Entomological Society of America», 98, pp. 775-786.
- AMANIFAR N., TAGHAVI M., IZADPANAH K., BABAEI G., BAKHTIARI C.M. (2014): *Isolation and pathogenicity of Xylella fastidiosa from grapevine and almond in Iran*, «Phytopathologia Mediterranea», 53, [http://dx.doi.org/10.14601/Phytopathol\\_Mediterr-12647](http://dx.doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-12647).
- AUBERT B. (1993): *Citrus greening disease, a serious limiting factor for citri culture in Asia and Africa*, in *Proceedings 4<sup>th</sup> Congress International Society Citrus Nurserymen*, Etienne R. Ed., South Africa, pp. 134-142.
- BEXTINE B.R., LAUZON C., POTTER S.E., LAMPE D., MILLER T.A. (2004): *Delivery of a genetically marked Alcaligenes sp. to the glassy winged sharpshooter for use in a paratransgenic control strategy*, «Current Microbiology», 48, pp. 327-331.
- BEXTINE B.R., LAMPE D., LAUZON C., JACKSON B., MILLER T.A. (2005): *Establishment of a genetically marked insect-derived symbiont in multiple host plants*, «Current Microbiology», 50, pp. 1-7.
- BLUA M.J. AND REDAK R.A. (2003): *Impact of a screen barrier on the introgression of the glassy-winged sharpshooter into a nursery yard*, in M.A. Tariq, S. Oswalt, P. Blincoe, R. Spencer, L. Houser, A. Ba, and T. Esser [eds.], *Proceedings of CDFA Pierce's disease*

- research symposium, 8-11 December 2003, Coronado, CA. Copeland Printing, Sacramento, CA, pp. 282-285.
- BOVÉ J.M. (2006): *Huanglongbing: a destructive, newly emerging, century-old disease of citrus*, «Journal of J. Plant Pathology», 88, pp. 7-37.
- BRESSAN A. (2014): *Emergence and evolution of Arsenophonus bacteria as insect-vectored plant pathogens*, «Infection, Genetics and Evolution», 22, pp. 81-90.
- BRESSAN A., SÉMÉTEY O., ANREODO J., LHERMINIER J., BOUDON-PADIEU E. (2009): *Vector transmission of a plant pathogenic bacterium in the Arsenophonus clade sharing ecological traits with facultative insect endosymbionts*, «Phytopathology», 99, pp. 1289-1296.
- BRESSAN A., SÉMÉTEY O., NUSILLARD B., CLAIR D., BOUDON-PADIEU E. (2008): *Insect vectors (Hemiptera: Cixiidae) and pathogen types associated with syndrome "basses richesses" disease of sugar beet in France*, «Plant Disease», 92, pp. 113-119.
- BRUTON B.D., MITCHELL F., FLETCHER J., PAIR S.D., WAYADANDE A., MELCHER U., BRADY J., BEXTINE B., POPHAM T.W. (2003): *Serratia marcescens, a phloem-colonizing, squash bug-transmitted bacterium: causal agent of cucurbit yellow vine disease*, «Plant Disease», 87 (8), pp. 937-944.
- CAMEROTA C., RADDAI N., PIZZINAT A., GONELLA E., CROTTI E., TEDESCHI R., MOZES-DAUBE N., EMBER I., ACS Z., KOLBER M., ZCHORI-FEIN E., DAFFONCHIO D., ALMA A. (2012): *Incidence of 'Candidatus Liberibacter europaeus' and phytoplasmas in Cacopsylla species (Hemiptera: Psyllidae) and their host/shelter plants*, «Phytoparasitica», 40, pp. 213-221.
- CARIDDI C., SAPONARI M., BOSCIA D., DE STRADIS A., LOCONSOLE G., NIGRO F., PORCELLI F., POTERE O., MARTELLI G.P. (2014): *Isolation of a Xylella fastidiosa strain infecting olive and oleander in Apulia, Italy*, «Journal of Plant Pathology», 96 (2), pp. 425-429.
- COVIELLA C.E., GARCIA J.F., JESKE D.R., REDAK R.A. & LUCK R.F. (2006): *Feasibility of tracking within-field movements of Homalodisca coagulata (Hemiptera: Cicadellidae) and estimating its densities using fluorescent dusts in mark-release-recapture experiments*, «Journal of Economic Entomology», 99 (4), pp. 1051-1057.
- CROTTI E., BALLOI A., HAMDI C., SANSONNO L., MARZORATI M., GONELLA E., FAVIA G., CHERIF F.A., BANDI C., ALMA A., DAFFONCHIO D. (2012): *Microbial symbionts: a resource for the management of insect-related problems*, «Microbial Biotechnology», 5, pp. 307-317.
- CZWIENCZEK E., ALMEIDA R.P.P., STANCANELLI G., GREGOIRE J.C., CAFFIER D., HOLLO G., MOSBACH-SCHULTZ O., STRONA G., BRAGARD C. (2014): *Extensive literature search to build a database on the host range of Xylella fastidiosa*, Proceedings of the International symposium on the European Outbreak of *Xylella fastidiosa* in olive, Gallipoli-Locorotondo, Italy, 21-24 October 2014, p. 50.
- DANET J.-L., SALAR P., BATAILLER B., FOISSAC X., GARNIER M. (2004): *Transmission of 'Candidatus Phlomobacter fragariae' to periwinkle by the planthopper Cixius wagneri (China) and characterization of the isolate*, «Acta Horticulturae», 656, pp. 87-95.
- DURON O., BOUCHON D., BOUTIN S., BELLAMY L., ZHOU L., ENGELSTADTER J. (2008): *The diversity of reproductive parasites among arthropods: Wolbachia do not walk alone*, «BMC Biology», 6, p. 27.
- DURVASULA R.V., GUMBS A., PANACKAL A., KRUGLOV O., AKSOY S., MERRIFIELD R.B., RICHARDS F.F., BEARD C.B. (1997): *Prevention of insect-borne disease: an approach using transgenic symbiotic bacteria*, «Proceeding National Academy of Science USA», 94, pp. 3274-3278.

- GATINAEU F., JACOB N., VAUTRIN S., LARRUE J., LHERMINIER J., RICHARD-MOLARD M., BOUDON-PADIEU E. (2002): *Association with the syndrome "basses richesses" of sugar beet of a phytoplasma and a bacterium-like organism transmitted by a Pentastiridius sp.*, «Phytopathology», 92, pp. 384-392.
- HALL D.G., RICHARDSON M., AMMAR E.-D., HALBERT S. (2013): *Asian citrus psyllid, Diaphorina citri, vector of citrus huanglongbing disease*, «Entomologia Experimentalis et Applicata», 146, pp. 207-223.
- HANSEN A.K., TRUMBLE J.T., STOUTHAMER R., PAINE T.D. (2008): *New Huanglongbing species, 'Candidatus Liberibacter psyllaurous' found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid Bactericera cockerelli (Sulc)*, «Applied and Environmental Microbiology», 74, pp. 5862-5865.
- HOPKINS D.L. & PURCELL A.H. (2002): *Xylella fastidiosa: cause of Pierce's disease of grapevine and other emergent diseases*, «Plant Disease», 86 (10), pp. 1056-1066.
- KRELL R.K., BOYD E.A., NAY J.E., PARK Y.L. AND PERRING T.M. (2007): *Mechanical and Insect Transmission of Xylella fastidiosa to Vitis vinifera*, «American Journal of Enology and Viticulture», 58, pp. 211-216.
- JANSE J.D. (2012): *Bacterial diseases that may or do emerge, with (possible) economic damage for Europe and the Mediterranean basin: notes on epidemiology, risks, prevention and management on first occurrence*, «Journal of Plant Pathology», 94 (4, Suppl.), S4-4.29.
- LEONARD M.T., FAGEN J.R., DAVIS-RICHARDSON A.G., DAVIS M.J., TRIPLETT E.W. (2012): *Complete genome sequence of Liberibacter crescens BT-1*, «Standards in Genomic Science», 7, pp. 271-283.
- LIEFTING L.W., WEIR B.S., PENNYCOOK S.R., CLOVER G.R. (2009): *'Candidatus Liberibacter solanacearum', associated with plants in the family Solanaceae*, «International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology», 59, pp. 2274-2276.
- LOISEAU M., GAMIER S., BOIRIN V., MERIEAU M., LEGUAY A., RENAUDIN I., RENVOISE J.P., GENTIT P. (2014): *First report of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' in carrot in France*, «Plant Disease», 98 (6), p. 839.
- LOPES S.A., MARCUSSI S., TORRES S.C.Z., SOUZA V., FAGAN C., FRANÇA S.C., FERNANDES N.G. & LOPES J.R.S. (2003): *Weeds as alternative hosts of the citrus, coffee, and plum strains of Xylella fastidiosa in Brazil*, «Plant Disease», 87 (5), pp. 544-549.
- LOPES S.A., FRARE G.F., BERTOLINI E., CAMBRA M., FERNANDES N.G., AYRES A.J., MARIN D.R., BOVÉ J.M. (2009): *Liberibacters associated with citrus huanglongbing in Brazil: 'Candidatus Liberibacter asiaticus' is heat tolerant, 'Ca. L. americanus' is heat sensitive*, «Plant Disease», 93, pp. 257-262.
- MANN R.S., PELZ-STELINSKI K., HERMANN S.L., TIWARI S., STELINSKI L.L. (2011): *Sexual transmission of a plant pathogenic bacterium, Candidatus Liberibacter asiaticus, between conspecific insect vectors during mating*, PLoS ONE 6: e29197.
- MASSONIE G., GARNIER M., BOVÉ J.M. (1976): *Transmission of Indian citrus decline by Trioza erytrae, the vector of the South African greening*, in Proc. 7<sup>th</sup> Conf. Int. Organic Citrus Virol., Calavan E.C. ed., University of California, Riverside, pp. 18-20.
- MILLER T.A., LAUZON C., LAMPE D., DURVASULA R., MATTHEWS S. (2006): *Paratransgenesis applied to control insect-transmitted plant pathogens: the Pierce's disease case*, in *Insect Symbiosis*, vol. 2, Bourtzis K. & Miller T.A. Ed., CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, pp. 247-263.
- MUNYANEZA J.E., FISHER T.W., SENGODA V.G., FARCZYNSKI S.F., NISSINEN A., LEMMETTY A. (2010): *Association of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' with the psyllid*

- Trioza apicalis* (Hemiptera: Triozidae) in Europe», «Journal of Economic Entomology», 103 (4), pp. 1060-1070.
- MUNYANEZA J.E., SENGODA V.G., SUNDHEIM L., MEADOW R. (2012): *First report on "Candidatus Liberibacter solanacearum" associated with psyllid-infected carrots in Norway*, «Plant Disease», 96, p. 454.
- NELSON W.R., SENGODA V.G., ALFARO-FERNANDEZ A.O., FONT M.I., CROSSLIN J.M., MUNYANEZA J.E. (2013): *A new haplotype of "Candidatus Liberibacter solanacearum" identified in the Mediterranean region*, «European Journal of Plant Pathology», 135, pp. 633-639.
- NACHAPPA P., LEVY J., PIERSON E., TAMBORINDEGUY C. (2014): *Correlation between "Candidatus Liberibacter solanacearum" infection levels and fecundity in its psyllid vector*, «Journal of Invertebrate Pathology», 115, pp. 55-61.
- NUNNEY L., YUAN X., BROMLEY R.E. AND STOUTHAMER R. (2010): *Population genomic analysis of a bacterial plant pathogen: novel insight into the origin of Pierce's disease of grapevine in the U.S.*, PLoS One 5: e15488.
- PAIAO F.G., MENEGUIM A.M., CASAGRANDE E.C. AND LEITE R.P. (2002): *Envolvimento de cigarras (Homoptera, Cicadidae) na transmissão de Xylella fastidiosa em cafeeiro*, «Fitopatologia Brasileira», 27, p. 67.
- PELZ-STELINSKI K.S., BRLANSKY H.R., EBERT T.A., ROGERS M.E. (2010): *Transmission parameters for Candidatus Liberibacter asiaticus by asian citrus psyllid*, «Journal of Economic Entomology», 103, pp. 1531-1541.
- PERRING T., FARRAR C. & BLUA M. (2001): *Proximity to citrus influences Pierce's disease in Temecula Valley vineyards*, «California Agriculture», 55 (4), pp. 13-18.
- PETIT J.N., HODDLE M.S., GRANDGIRARD J., RODERICK G.K. & DAVIES N. (2008): *Invasion dynamics of the glassy-winged sharpshooter Homalodisca vitripennis (Germar) (Hemiptera: Cicadellidae) in French Polynesia*, «Biological Invasions», 10 (7), pp. 955-967.
- PURCELL A.H. (1989): *Homopteran transmission of xylem-inhabiting bacteria*, in *Advances in disease vector research*, vol. 6, Ed Harris KF. Springer, New York, pp. 243-266.
- PURCELL A.H., HOPKINS D.L. (1996): *Fastidious xylem-limited bacterial plant pathogens*, «Annual Review of Phytopathology», 34 (1), pp. 131-151.
- RAMIREZ J.L., PERRING T.M., MILLER T.A. (2008): *Fate of a genetically modified bacterium in foregut of Glassy-Winged Sharpshooter (Hemiptera: Cicadellidae)*, «Journal of Economic Entomology», 101 (5), pp. 1519-1525.
- RADDADI N., GONELLA E., CAMEROTA C., PIZZINAT A., TEDESCHI R., CROTTI E., MANDRIOLI M., BIANCO P.A., DAFFONCHIO D., ALMA A. (2011): *'Candidatus Liberibacter europaeus' sp. nov. that is associated with and transmitted by the psyllid Cacopsylla pyri apparently behaves as an endophyte rather than a pathogen*, «Env. Microbiol.», 13 (2), pp. 414-426.
- REDAK R.A., PURCELL A.H., LOPES J.R.S., BLUA M.J., MIZELL III R.F. AND 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, pp. 243-270.
- REMANANT B., DE CAMBIAIRE J.-C., CELLIER G., JACOBS J.M., MANGENOT S., BARBE V., LAJUS A., VALLENET D., MEDIGUE C., FEGAN M., ALLEN C., PRIOR P. (2011): *Ralstonia solanaceae, the blood disease bacterium and some asian R. solanacearum strains form a single genomic species despite divergent lifestyles*, PLoS ONE 6: e24356.
- RICHARD-MOLARD M., GARRAESSUS S., MALATESTA G., ORNY G., VALENTIN P., LEMAIRE O., REINBOLD C., GESRT M., BLECH F., FONNE G., PUTZ C., GROUSSON C., BOUDON-PADIEU E. (1995): *Le syndrome des basses richesses – Investigations au champ et*

- tentatives d'identification de l'agent pathogène et du vecteur*, in Proceedings of the 58th Congrès de l'Institut International de Recherches Betteravières, Bruxelles, 19-22 Juin 1995, Dijon-Beaune, France, pp. 299-309.
- SAPONARI M., BOSCIA D., NIGRO F. AND 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», 95, p. 668.
- SAPONARI M., LOCONSOLE G., CORNARA D., YOKOMI R.K., DE STRADIS A., 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 (4), pp. 1316-1319.
- SCHAAD N.W., POSTNIKOVA E., LACY G., FATMI M. AND CHANG C.J. (2004): *Xylella fastidiosa subspecies: X. fastidiosa subsp. piercei, subsp. nov., X. fastidiosa subsp. multiplex subsp. nov., and X. fastidiosa subsp. pauca subsp. nov.*, «Systematic and applied microbiology», 27 (3), pp. 290-300.
- SCHUENZEL E.L., SCALLY M., STOUTHAMER R. AND NUNNEY L. (2005): *A multigene phylogenetic study of clonal diversity and divergence in North American strains of the plant pathogen Xylella fastidiosa*, «Applied and Environmental Microbiology», 71, pp. 3832-3839.
- SISTERSON M.S., STENGER D.C. (2013): *Roguing with replacement in perennial crops: conditions for successful disease management*, «Phytopathology», 103 (2), pp. 117-128.
- SU C.-C., CHANG C.J., CHANG C.-M., SHIH H.-T., TZENG K.-C., JAN F.-J., KAO C.-W. AND DENG W.-L. (2013): *Pierce's Disease of grapevines in Taiwan: isolation, cultivation and pathogenicity of Xylella fastidiosa*, «Journal of Phytopathology», 161, pp. 389-396.
- TANAKA M., NAO M., USUGI T. (2006): *Occurrence of strawberry marginal chlorosis caused by 'Candidatus Phlomobacter fragariae' in Japan*, «Journal of General Plant Pathology», 72, pp. 374-377.
- TEIXEIRA D.C., DANET J.L., EVEILLARD S., MARTINS E.C., CINTRA DE JESUS W.JR, YAMAMOTO P.T., APARECIDO LOPES S., BEOZZO BASSANEZI R., JULIANO AYRES A., SAILLARD C., BOVÉ J.M. (2005): *Citrus huanglongbing in São Paulo State, Brazil: PCR detection of the 'Candidatus' Liberibacter species associated with the disease*, «Molecular and Cellular Probes», 19, pp. 173-179.
- TERESANI G.R., BERTOLINI E., ALFARO-FERNÁNDEZ A., MARTÍNEZ C., OSSAMU TANAKA F.A., KITAJIMA E.W., ROSELLÓ M., SANJUÁN S., FERRÁNDIZ J.C., LÓPEZ M.M., CAMBRA M., FONT M.I. (2014): *Association of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' with a vegetative disorder of celery in Spain and development of a Real-Time PCR method for its detection*, «Phytopathology», 104 (8), pp. 804-811.
- TERLIZZI F., BABINI A.R., LANZONI C., PISI A., CREDI R., FOISSAC X., SALAR P. (2007): *First report of a  $\gamma$ -3 proteobacterium associated with diseased strawberries in Italy*, «Plant Dis.», 91, p. 1688.
- THOMPSON S., FLETCHER J.D., ZIEBELL H., BEARD S., PANDA P., JORGENSEN N., FOWLER S.V., LIEFTING L.W., BERRY N., PITMAN A.R. (2013): *First report of 'Candidatus Liberibacter europaeus' associated with psyllid infested Scotch broom*, «New Disease Reports», 27, p. 6.
- WAYADANDE A., BRUTON B., FLETCHER J., PAIR S. & MITCHELL F. (2005): *Retention of cucurbit yellow vine disease bacterium Serratia marcescens through transstadial molt of vector Anasa tristis (Hemiptera: Coreidae)*, «Annals of the Entomological Society of America», 98 (6), pp. 770-774.

- WANG N. E TRIVEDI P. (2013): *Citrus Huanglongbing: a newly relevant disease presents unprecedented challenges*, «Phytopathology», 103 (7), pp. 652-665.
- ZREIK L., BOVÉ J.M., GARNIER M. (1998): *Phylogenetic characterization of the bacterium-like organism associated with marginal chlorosis of strawberry and proposition of a Candidatus taxon for the organism, 'Candidatus Phlomobacter fragariae'*, «International Journal of Systematic Bacteriology», 48, pp. 257-261.



DONATO BOSCIA\*, MARIA SAPONARI\*, FRANCO NIGRO\*\*,  
GIOVANNI P. MARTELLI\*\*

## Il caso del disseccamento rapido dell'olivo: sintomatologia ed eziologia

Il “complesso del disseccamento rapido dell'olivo” (CoDiRO) è una fitopatia distruttiva balzata agli onori della cronaca nella primavera/estate del 2013, ma che si era manifestata già da qualche anno, probabilmente tra il 2008 e il 2010, in una ristretta zona degli agri di Alezio, Parabita e Taviano, un comprensorio della costa occidentale della provincia di Lecce prossimo a Gallipoli (fig. 1). La malattia è fonte di grave preoccupazione sia per l'impatto economico che per le ricadute ambientali e paesaggistiche. Quando, alla fine dell'estate del 2013, su segnalazione dell'Osservatorio Fitosanitario della Regione Puglia iniziarono le indagini dell'Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante (IPSP) del Consiglio Nazionale delle Ricerche (già Istituto di Virologia Vegetale) e del Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti (DiSSPA) dell'Università di Bari, l'affezione era diffusa su una superficie di circa 8.000 ha secondo una stima che, nell'estate del 2014, è stata aggiornata, probabilmente per difetto, a circa 25.000 ha.

Il CoDiRO, che interessa in egual modo entrambe le cultivar ('Cellina di Nardò' e 'Ogliarola di Lecce') su cui si basa l'olivicoltura salentina, è caratterizzato, come ne denuncia il nome, da bruscature apicali e/o marginali delle foglie e disseccamenti localizzati di rami e piccole branche, il cui numero aumenta nel tempo sino a interessare l'intera chioma nel giro di pochi anni (fig. 2). La distribuzione dei seccumi è a caso, ma prevale nei palchi superiori nelle fasi iniziali della malattia. I rami colpiti nell'anno mantengono le foglie e i frutti disseccati fino a inverno inoltrato; ciò conferisce alle piante un aspetto

\* Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante, Consiglio Nazionale delle Ricerche, UOS Bari

\*\* Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università di Bari Aldo Moro



Fig. 1 Mappa della penisola salentina con l'indicazione dei comuni interessati per primi dal Complesso del Disseccamento Rapido dell'Olio (Alezio, Parabita, Taviano)

abbruciacciato, cui segue una estesa defoliazione. Negli oliveti infetti non è raro che la totalità delle piante sia sintomatica (fig. 3). Su di esse si riscontra anche un'elevata frequenza di fori causati dal rodilegno giallo, il lepidottero *Zeuzera pyrina*, cui era stata inizialmente attribuita la causa dei disseccamenti. Infine, sezionando rami e branche di piante sintomatiche, si osservano con elevata frequenza imbrunimenti del tessuto legnoso dell'annata (fig. 4).

Il CoDiRO si manifesta in maniera più grave sugli olivi più avanti negli anni e di grandi dimensioni, sui quali gli agricoltori intervengono con pesanti potature, nella speranza che a queste segua una ripresa vegetativa. Ciò si verifica in modo sporadico e settoriale, e i ricacci finiscono per disseccare anch'essi. Anche se ormai ischeletriti, gli alberi non sono morti e reagiscono con la produzione di polloni che dopo qualche tempo cominciano anch'essi a deperire (fig. 2D).

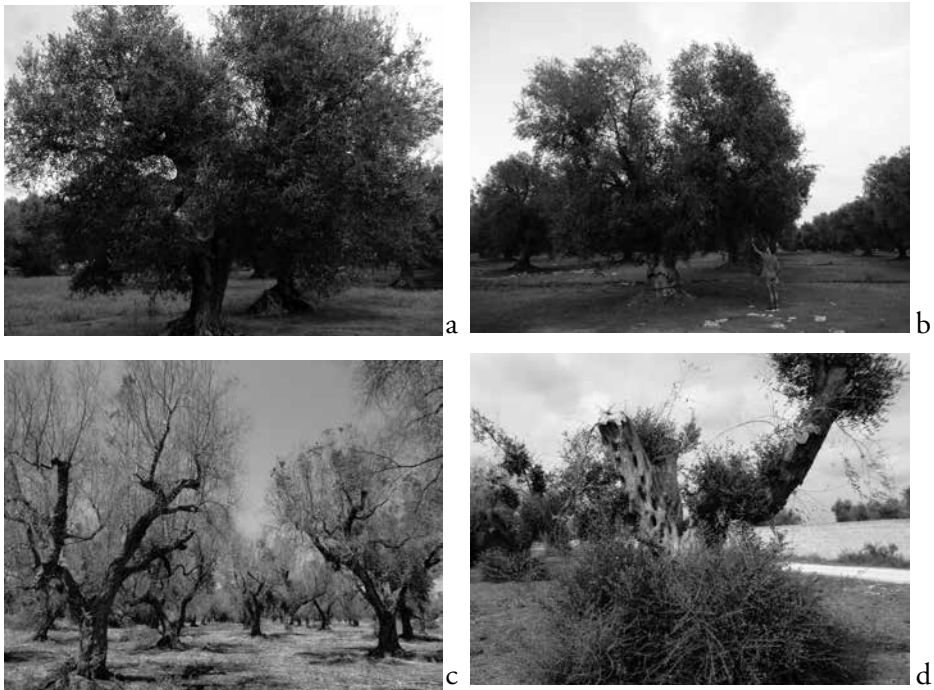


Fig. 2 *Olivo con sintomi di disseccamento nello stadio iniziale (A), intermedio (B) e terminale (C); abbondante emissione di polloni in un olivo in fase avanzata della malattia (D)*



Fig. 3 *Veduta panoramica di un oliveto totalmente colpito dal CoDiRO; si noti la presenza dei disseccamenti su tutte le piante*



Fig. 4 *Imbrunimenti del legno in un ramo con sintomi di disseccamento*

Le indagini svolte nel 2013 negli oliveti di recente impianto, nei quali non è presente il complesso di fattori di cui qui di seguito, sembrarono indicare che i sintomi fossero lievi o, comunque, poco significativi. Purtroppo, però, l'evoluzione osservata nella primavera/estate del 2014 ha ridimensionato la speranza che in queste più giovani piante la malattia potesse non avere esiti esiziali (fig. 5).

Negli olivi di grandi dimensioni, anche ultracentenari, affetti da CoDi-RO, le prime indagini condotte nell'autunno 2013 identificarono la conco-



Fig. 5 Giovane pianta di cv. "Ogliarola di Lecce" con gravi sintomi di disseccamento

mitante presenza di tre diversi agenti, alla cui azione congiunta si è creduto di poter ascrivere la sintomatologia osservata (Martelli, 2013). Inizialmente, i disseccamenti furono imputati alle infestazioni di *Z. pyrina* (riscontrate in

tutte le piante fortemente sintomatiche) che nel Salento ricorrono in forma endemica e grave sin dal XVIII secolo (Frisullo et al., 2014). L'approfondimento delle indagini rivelò poi l'esistenza di estesi imbrunimenti del legno dell'annata, colonizzato da specie fungine dei generi *Phaeoacremonium* (*P. parasiticum*, *P. rubrigenum*, *P. aleophilum*, *P. alvesii*) e *Phaeomoniella* (Nigro et al., 2013), miceti a crescita lenta, alcuni dei quali già noti patogeni primari di diverse specie arboree e precursori della "carie del legno" dell'olivo. Nel caso del CoDiRO, questi funghi sembrano avvalersi delle soluzioni di continuità causate da ferite e delle stesse gallerie del rodilegno giallo per una più rapida invasione dei tessuti. Ulteriori indagini hanno poi accertato la presenza di altri miceti, quali *Pleruostomophora richardsiae*, *Neofusicoccum mediterraneum*, *N. australe* e *N. vitifusiforme* ritrovati, anche se con minor frequenza, anche in aree esterne ai focolai di CoDiRO. Infine, isolati fungini mai descritti in precedenza, per alcuni aspetti morfologicamente simili a *Phaeomoniella* sp. ma geneticamente diversi da quelli le cui sequenze sono depositate in banca dati, sono stati isolati esclusivamente da piante di olivo, mandorlo e *Acacia saligna* infette da *Xylella fastidiosa* (Nigro et al., 2014), il terzo fattore riscontrato in ordine di tempo nelle piante affette da CoDiRO (Saponari et al., 2013).

Il batterio Gram-negativo *X. fastidiosa* è un agente da quarantena non segnalato in Europa e nel Bacino del Mediterraneo [le segnalazioni in Kosovo su vite (Berisha et al., 1998), e in Turchia su mandorlo (Güldür et al., 2005) mancano di conferma] che si localizza nei vasi legnosi (tracheidi) delle piante infette ed è trasmesso da vari generi e specie di cicaline che si alimentano sullo xilema degli ospiti da cui lo acquisiscono e sono in grado di trasferirlo ad altre piante suscettibili.

La colonizzazione dei vasi legnosi è il risultato di successive migrazioni delle cellule batteriche da un vaso all'altro, condizione essenziale per la sopravvivenza di *X. fastidiosa* poiché, in assenza di movimento, l'infezione recede per morte del batterio. Se invece il movimento intraxilematico è attivo, *Xylella* si moltiplica nelle tracheidi che progressivamente invade, nelle quali dà vita ad ammassi di cellule che le ostruiscono, bloccando così il flusso di acqua verso l'alto. A ciò sono dovute, nelle piante arbustive e arboree in particolare, le bruscature fogliari e i disseccamenti dei rami o di intere branche.

È in base alle osservazioni di campo e ai reperti di laboratorio dell'autunno-inverno 2013 che il quadro sintomatologico osservato sugli olivi salentini è stato denominato CoDiRO. Era infatti apparso verosimile che i diversi potenziali agenti eziologici individuati potessero concorrere congiuntamente a determinare così diffuse e gravi manifestazioni sintomatologiche sulle vecchie piante di olivo. L'approfondimento delle indagini di campo ha però rivelato

che *Z. pyrina*, della quale non vi sono attacchi in oliveti giovani visibilmente infetti, ha un ruolo del tutto secondario, mentre ai funghi xilematici è attribuibile la funzione di aggravatori. *X. fastidiosa* rimane, pertanto, il più importante e pericoloso agente di “disseccamento rapido”, la cui eziologia, più che a un “complesso” di fattori sembra attribuibile principalmente alla infezione batterica.

*X. fastidiosa* ha una vasta gamma di ospiti legnosi ed erbacei, che ne costituiscono il serbatoio naturale, e di vettori (cicaline), alcuni dei quali fanno parte della fauna entomologica italiana. Tra questi, la “sputacchina media” (*Philaenus spumarius*) la cui capacità vettrice è stata sperimentalmente dimostrata (Saponari et al., 2014a). Pertanto, la sua segnalazione in Puglia è fonte di giustificati timori, anche per la gravità dei danni che infligge alla vite (Pierce's disease) nelle Americhe, e agli agrumi [*Citrus variegated chlorosis* (CVC)] in Sud America, colture di primaria importanza per il nostro Paese, Puglia inclusa.

Fortunatamente la gamma d'ospiti del ceppo salentino di *X. fastidiosa* sembra, al momento, limitata a poche specie, cosa che trova parziale spiegazione nella omogeneità genetica dei numerosi isolati batterici a tutt'oggi analizzati. Oltre all'olivo, è stata comprovata la suscettibilità di mandorlo, ciliegio, oleandro, *Polygala myrtifolia*, *Westringia fruticosa*, *Vinca rosea* e *V. minor* (Saponari et al., 2014b) e, più recentemente, di *Acacia saligna* e ginestra (*Spartium junceum*) (Boscia, 2014). A eccezione delle due specie di *Vinca*, entrambe asintomatiche, su tutte le altre sono stati osservate brusature fogliari e, nel caso dell'oleandro, acacia, ginestra, *Polygala* e *Westringia*, disseccamenti di rami o dell'intera chioma, simili a quelli mostrati dagli olivi infetti (fig. 6).

Analisi molecolari hanno dimostrato l'appartenenza del ceppo salentino di *X. fastidiosa*, che dal nome originariamente dato alla malattia è stato anch'esso denominato CoDiRO, alla sottospecie *pauca*, pur se distinto dai ceppi già noti della stessa sottospecie, in particolare dagli isolati “citrus”, associato a CVC, e “coffee”, entrambi presenti in Sud America (Saponari et al., 2014c). Il ceppo nostrano, che fortunatamente sembra non interessare gli agrumi, potrebbe invece avere la sua origine nell'America Centrale, visto che un genotipo con lo stesso ST (Sequence Type - MLST) è stato recentemente trovato in Costa Rica, su oleandro e mango.

L'isolamento del genotipo salentino di *Xylella* in coltura pura (Cariddi et al., 2014), che ha seguito quello di specie fungine sia mai descritte in precedenza che riconducibili a *Phaeoacremonium* e *Neofusicoccum* spp. (Nigro et al., 2014), ha consentito di avviare prove di patogenicità su olivo e altri



Fig. 6 Sintomi di bruscatura o disseccamento su piante infette da «*Xylella fastidiosa*»: olean-  
dro (A), «*Polygala myrtifolia*» (B), «*Acacia saligna*» (C), ciliegio (D)

ospiti di primaria importanza per l'agricoltura meridionale, i cui risultati saranno fondamentali per dimostrare il ruolo eziologico di questi microrganismi. Va comunque sottolineato che le risultanze del monitoraggio regionale, che ha interessato oltre 20.000 campioni, evidenziano una perfetta corrispondenza tra presenza di sintomi di CoDiRO e *X. fastidiosa*, al punto da rendere le rispettive mappe di distribuzione territoriale perfettamente sovrapponibili. Così non è per *Z. pyrina* né, apparentemente, per gran parte dei funghi lignicoli che, come si è accennato, si ritrovano anche nelle aree non interessate dal CoDiRO. Un livello di associazione patogeno-malattia così alto lascia pochi dubbi sul coinvolgimento di *X. fastidiosa* nell'eziologia del CoDiRO, pur lasciando aperta la questione della capacità del batterio di



indurre la malattia da solo o di necessitare del contributo sinergico di altri microrganismi.

#### RIASSUNTO

Il patogeno da quarantena *Xylella fastidiosa* è stato riscontrato per la prima volta in Europa e nel Bacino del Mediterraneo su piante di olivo colpite da una grave affezione denominata “Complesso del Disseccamento Rapido dell'Olivo” (CoDiRO). I sintomi sono costituiti da forti bruscature fogliari e disseccamenti di rametti e branche, imbrunimento del sistema vascolare e un progressivo e generalizzato deperimento che porta le piante alla morte. La malattia è apparsa all'improvviso qualche anno addietro negli oliveti di una ristretta zona della provincia di Lecce (penisola salentina) da dove in pochi anni si è diffusa su di una superficie stimata a circa 25.000 ha. Le risultanze delle prime osservazioni di campo e analisi di laboratorio sembrarono indicare che la malattia fosse sostenuta da un complesso di tre principali fattori: (i) attacchi del rodilegno giallo (*Zeuzera pyrina*), un lepidottero le cui larve scavano gallerie nei tronchi e nelle branche che facilitano l'ingresso del secondo agente, (ii) funghi di diversi generi che invadono e necrotizzano il legno dell'annata e, (iii) il batterio a localizzazione xilematica *Xylella fastidiosa*. Studi più recenti e approfonditi fanno ora ritenere che il ruolo di *Z. pyrina* sia trascurabile mentre il principale agente del CoDiRO sia un ceppo di *X. fastidiosa* subsp. *pauca* di possibile origine centro americana (Costa Rica) verosimilmente coadiuvato da miceti col ruolo di aggravatori. Una risposta definitiva sulla eziologia del CoDiRO verrà data dai saggi di patogenicità con batteri da colture pure attualmente in corso.

#### ABSTRACT

The quarantine pathogen *Xylella fastidiosa* has been reported for the first time in Europe and in the Mediterranean basin on olive trees affected by a severe disease denoted “Complesso del Disseccamento Rapido dell'Olivo” (CoDiRO). Disease symptoms include extensive leaf scorching and branch dieback, discolouration of the vascular system and a generalized progressive decline that leads the plants to death. This severe disorder appeared suddenly a few years ago in the olive groves of a restricted area of the Apulian province of Lecce (Salento peninsula, south-east Italy). From there, the disease has expanded to a wider area, currently estimated to ca. 25,000 ha. According to early observations the aetiology of the disease appeared to involve a complex of at least three major factors: (i) infestations by the leopard moth (*Zeuzera pyrina*), a lepidopteron, whose galleries excavated in trunks and branches facilitate the entry of the second agent, (ii) a complex of xylem-inhabiting fungi of various genera, which colonize and necrotize the sapwood and, (iii) the xylem-limited bacterium *Xylella fastidiosa*. However, more extensive studies have shown that a strain of *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* may be the major responsible for the olive decline syndrome, in which different xylem-inhabiting fungal species may participate as aggravators. Pathogenicity tests to determine the role of these putative agents in disease aetiology are underway.

## BIBLIOGRAFIA

- BERISHA B., CHEN Y.D., ZHANG G.Y., XU B.Y., CHEN T.A. (1998): *Isolation of Pierce's disease bacteria from grapevines in Europe*, «European Journal of Plant Pathology», 104, pp. 427-433.
- BOSCIA D. (2014): *Occurrence of Xylella fastidiosa in Apulia*, Proceedings of the International Symposium on the European Outbreak of *Xylella fastidiosa* in Olive - Gallipoli-Locorotondo, 21-24 Ottobre 2014, p. 30.
- CARIDDI C., SAPONARI M., BOSCIA D., DE STRADIS A., LOCONSOLE G., NIGRO F., PORCELLI F., POTERE O., MARTELLI G.P. (2014): *Isolation of a Xylella fastidiosa strain infecting olive and oleander in Apulia, Italy*, «Journal of Plant Pathology», 96, pp. 425-429.
- FRISULLO S., CAMELE I., AGOSTEO G.E., BOSCIA D., MARTELLI G.P. (2014): *Brief historical account of olive leaf scorch ("brusca") in the Salento peninsula of Italy and state-of-the-art of the olive quick decline syndrome*, «Journal of Plant Pathology», 96, doi: 10.4454/JPP.V96I3.009.
- GÜLDÜR M.E., ÇAĞLAR B.K., CASTELLANO M.A., ÜNLÜ L., GÜRAN S., YILMAZ M.A., MARTELLI G.P. (2005): *First report of almond leaf scorch in Turkey*, «Journal of Plant Pathology», 87, p. 246.
- MARTELLI G.P. (2013): *Disseccamento rapido dell'olivo*, «Georgofili INFO», 30 Ottobre 2013.
- NIGRO F., BOSCIA D., ANTELM I., IPPOLITO A. (2013): *Fungal species associated with a severe decline of olive in Southern Italy*, «Journal of Plant Pathology», 95, p. 668.
- NIGRO F., ANTELM I., IPPOLITO A. (2014): *Identification and characterization of fungal species associated with the quick decline of olive*, Proceedings of the International Symposium on the European Outbreak of *Xylella fastidiosa* in Olive - Gallipoli-Locorotondo, 21-24 Ottobre 2014, p. 29.
- 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», 95, p. 668.
- SAPONARI M., LOCONSOLE G., CORNARA D., YOKOMI R.K., DE STRADIS A., BOSCIA D., BOSCO D., MARTELLI G.P., KRUGNER R., PORCELLI F. (2014a): *Infectivity and transmission of Xylella fastidiosa by Philaenus spumarius (Hemiptera: Aphrophoridae) in Apulia, Italy*, «Journal of Economic Entomology», 107, pp. 1316-1319.
- SAPONARI M., BOSCIA D., LOCONSOLE G., PALMISANO F., SAVINO V., POTERE O., MARTELLI G.P. (2014b): *New hosts of Xylella fastidiosa strain CoDIRO in Apulia*, «Journal of Plant Pathology», doi: 10.4454/JPP.V96I3.008.
- SAPONARI M., LOCONSOLE G., ALMEIDA R., COLETTA-FILHO H.D., MARTELLI G.P., BOSCIA D. (2014c): *Isolation, genotype and preliminary data on the pathogenicity of Xylella fastidiosa CoDiRO strain*, Proceedings of the International Symposium on the European Outbreak of *Xylella fastidiosa* in Olive - Gallipoli-Locorotondo, 21-24 Ottobre 2014, p. 36.

## Biologia, etologia e controllo dei vettori in relazione all'epidemiologia del CoDiRO

### PREMESSA

Le recenti evidenze di una malattia (CoDiRO) particolarmente grave sugli olivi del Salento hanno portato al ritrovamento in Italia di un batterio xylematico da quarantena, la *Xylella fastidiosa*, noto per essere negli USA l'agente della "Pierce's disease", ampelopatia grave e spesso letale. Tale microorganismo è trasmesso quasi esclusivamente da Hemiptera xylemofagi e in Italia tale vettore è stato identificato (Saponari et al., 2014) negli adulti di *Philaenus spumarius* L. (Hemiptera Aphrophoridae), comunemente noto come "Sputacchina".

Con questo contributo condividiamo lo stato dell'arte sulla biologia e l'etologia di *Philaenus spumarius* L., unico vettore per ora noto di *Xylella fastidiosa* ceppo CoDiRO, in base alle evidenze raccolte in un anno di osservazioni nell'area in cui si è manifestato il Complesso. Su tali evidenze discutiamo la possibile epidemiologia del CoDiRO, e proponiamo una strategia IPM per l'efficace controllo delle popolazioni del vettore.

### MATERIALI E METODI

Le ricostruzioni qui presentate originano sia da osservazioni dirette sugli stadi preimmaginali, sia da campionamenti e prelievi di esemplari adulti eseguiti con metodi relativi, principalmente il retino da sfalcio e la cattura diretta con flaconi.

Le evidenze di campo, raccolte quasi esclusivamente in oliveti, hanno trovato conferma con allevamenti eseguiti negli stessi luoghi di cattura dei vet-

\* DiSSPA sez. Entomologia e Zoologia, Università di Bari Aldo Moro

tori. Da ottobre 2013 a settembre 2014 abbiamo eseguito un totale di 124 visite in campo, con circa 800 osservazioni dirette su stadi preimmaginali, circa 750 campionamenti con retino da sfalcio, e 500 catture dirette con flaconi. Inoltre, abbiamo condotto 27 allevamenti di conferma ognuno con circa 20 adulti contemporaneamente presenti su piante ospiti erbacee. In media abbiamo visitato i luoghi del CoDiRO con dieci missioni al mese. Altri dati di confronto sono stati raccolti nel nord barese, per un totale di 20 campionamenti e altrettante raccolte. I risultati di questo primo anno di studio sono presentati in funzione della preparazione di una strategia di controllo integrato delle popolazioni del vettore.

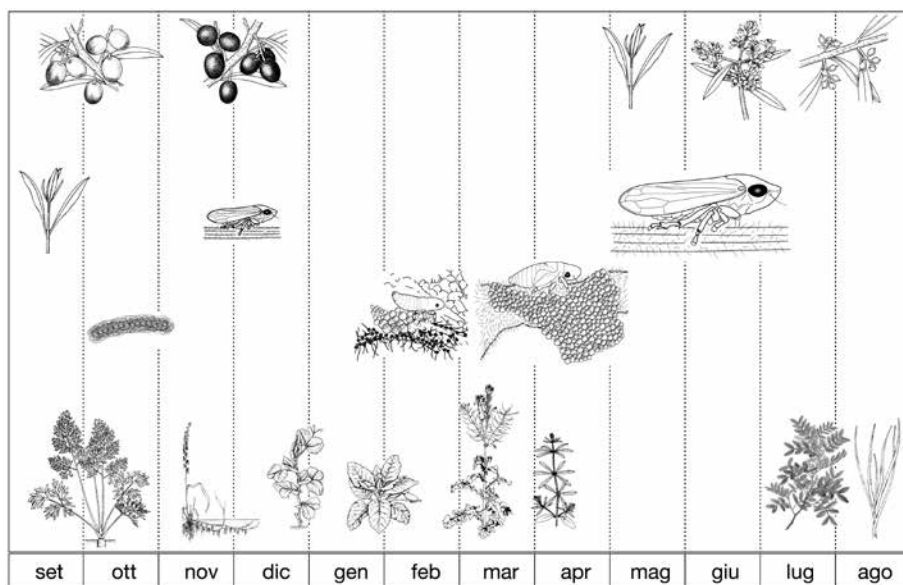
RISULTATI (Cornara et al., 2014; Cornara e Porcelli, 2014)

### *Biologia (fig. 1)*

Abbiamo osservato le prime uova, deposte subparallele in ovature di 10-14 elementi leggermente arcuate e ricoperte di un secreto colleterico solidificato, a partire da fine settembre in corrispondenza dei primi abbassamenti di temperatura autunnali. Le deposizioni continuano fino a inverno inoltrato ed è possibile trovare femmine deponenti a fine dicembre. Le femmine preferiscono riparare le uova in spazi angusti come quelli fra le guaine basali secche e i culmi delle monocotiledoni infestanti. In campo, le uova sono state osservate su *Sorghum halepense* infestante i margini degli oliveti, presso muretti a secco o lungo le strade poderali.

I chorion sottili lasciano intravedere lo sviluppo embrionale, che si manifesta con la comparsa di macchie arancioni o nere. I primi nati schiudono a gennaio e raggiungono le piante ospiti erbacee sulle quali le ninfe, prima gregarie e poi solitarie, producono le caratteristiche masse spumose all'interno delle quali compiono la vita preimmaginale. Le deposizioni e le nascite sono scalari e si osservano fino a gennaio. Non abbiamo cercato, e nemmeno individuato, specie erbacee nettamente preferite dalle ninfe. Peraltro, gli "sputi" contenenti le ninfe sono uniformemente distribuiti sulla superficie inerbita negli oliveti; il fenomeno è manifesto anche a un'osservazione superficiale.

La metamorfosi avviene dai primi di maggio e gli adulti abbandonano le piante erbacee, che iniziano a disseccare seguendo il proprio ciclo e l'andamento stagionale, e si spostano sugli apici delle vermine degli olivi che sono in vegetazione e in preparazione alla fioritura, nutrendosene. Gli adulti abbandonano gli apici con il caldo estivo, quando questi hanno smesso di



crescere e sono lignificati. Alla ricerca di tessuti vegetali freschi, gli adulti si spostano sui cespugli e le altre piante in vegetazione prossime agli oliveti, come mirti e lentischi, prevalentemente residui della vegetazione a macchia mediterranea, ovvero piante ruderali o pioniere che offrano loro riparo ma soprattutto alimento. Su queste ultime piante alimentari, gli adulti attendono che le prime piogge di fine agosto-settembre inducano una nuova vegetazione di specie erbacee spontanee e infestanti, verso le quali si dirigeranno per nutrirsi e accoppiarsi in attesa di deporre le proprie uova ai primi abbassamenti di temperatura (Cornara et al., 2014).

## Etologia

La popolazione di *Philaenus spumarius* compie alcuni spostamenti attivi, in massa e a corto raggio, nel corso del proprio ciclo vitale. I neonati si spostano orizzontalmente (1) dai luoghi di deposizione delle uova, normalmente i bordi campo, i muretti a secco o gli affioramenti rocciosi, alle piante infestanti erbacee degli oliveti. Gli adulti neosfarfallati invece, si spostano (2) e

salgono dalle erbacee infestanti alla chioma degli olivi, preferendo il terzo superiore della pianta; poco dopo scenderanno dalle chiome per spostarsi (3) sui cespugli e arbusti perenni. Infine, ritorneranno alle erbacee e ai luoghi di deposizione (4). Singoli individui di *Philaenus* possono facilmente essere oggetto di trasporto passivo a lungo raggio in autovetture e mezzi di trasporto privati o commerciali, data l'attitudine del vettore a saltare sulle persone o entrare nelle autovetture alla prima occasione utile (Cornara e Porcelli, 2014).

#### DISCUSSIONE

Il *Philaenus spumarius* ha, nell'area interessata dal CoDiRO, un ciclo monovoltino con adulti presenti dalla tarda primavera-estate fino all'inverno, uova svernanti e sviluppo postembrionale primaverile. Tale stagionalità contrasta con quella di analoghi cicli annuali descritti in Nord e centro Europa (Ossiannilsson, 1981; Yurtsever, 1999). L'unico indizio di un ciclo bivoltino (Drosopoulos e Asche, 1991), riferito alla Grecia, non è confortato da osservazioni e dati su ovideposizione e presenza di giovani della seconda generazione e non è confermato dalle nostre evidenze.

Sebbene gli spostamenti descritti e dimostrati durante i campionamenti e i prelievi non coinvolgano la totalità degli individui, interessano una grande percentuale della popolazione (>90%) del vettore, e sono significativi per comprendere la dinamica della trasmissione. Tali spostamenti appaiono interessanti perché dimostrano le particolari necessità di alimentazione che rendono prevedibile il comportamento del vettore. Al contrario, gli spostamenti passivi a medio lungo raggio di individui isolati sono imprevedibili nel loro significato epidemiologico e biologico.

In particolare, gli adulti di *P. spumarius* frequentano gli olivi per un breve periodo durante il quale acquisiscono e ritrasmettono la *Xylella* a piante già infette o ancora sane. Sapere che un unico vettore frequenta l'unica specie vegetale che è contemporaneamente il principale serbatoio e l'ospite finale del patogeno, semplifica notevolmente il patosistema e permette di individuare, in modo relativamente facile, i punti chiave e i percorsi critici sui quali costruire un'ipotesi di controllo.

Vi sono due punti chiave per il controllo del vettore: il primo corrisponde agli *stadi giovanili del vettore*; il secondo, alla presenza degli adulti sulle piante di olivo *fra la pre-fioritura e l'ingrossamento delle olive*. Mentre il primo punto chiave regola la numerosità degli individui adulti e, in definitiva, la dimensio-

ne della popolazione del vettore, il secondo condiziona le opportunità d'infezione e superinfezione degli olivi.

Questi due punti sono connessi da un percorso critico che consiste nella corrispondenza fra gli stadi giovanili e gli adulti della popolazione studiata.

Le conseguenti azioni di controllo consistono nell'applicazione di fattori di mortalità rispetto ai due punti chiave, fattori che sono destinati a interrompere il percorso critico individuato.

Individuiamo due azioni che sono: una, il controllo meccanico degli stadi giovanili del vettore per mezzo di trinciature delle piante ospiti erbacee; l'altra, il controllo chimico degli adulti sugli olivi prima che divengano infettanti.

Una o due trinciature delle piante ospiti erbacee, temporizzate in funzione della fenologia dello sviluppo postembrionale del vettore e in dipendenza dell'andamento stagionale, potranno ridurre in modo significativo la popolazione del *Philaenus* prima che diventi mobile e infettante e possa prontamente spostarsi sugli olivi (Goidanich, 1957).

Il controllo chimico contro gli adulti del vettore su olivo in *pre-floritura e ingrossamento delle olive*, deve garantire la massima riduzione della popolazione di adulti del vettore. A tal fine si consiglia il ricorso a formulati sistemici bidirezionali e formulati con elevato potere abbattente a copertura della presenza di vettori adulti infettanti. Tale controllo avverrà preferibilmente secondo disciplinare, ma anche oltre i disciplinari (per i primi anni d'intervento), e le distribuzioni saranno reiterate in funzione dell'area nella quale intervenire e della necessità di applicare il controllo chimico più o meno intensamente.

Oltre all'ovvio vantaggio dell'eliminazione diretta dei vettori in campo, auspichiamo che le azioni qui individuate agiscano sul percorso critico, interrompendo la corrispondenza fra gli stadi giovanili e gli adulti poi trovati nel campo. In tal modo, eventuali adulti presenti in aree non sottoposte a diretto controllo tenderanno a immigrare nelle superfici controllate, ma saranno sottoposti prima a fattori di mortalità naturali che questi adulti immigranti incontreranno durante i loro spostamenti, e poi, ai fattori artificiali già suggeriti nel testo. In altre parole, potremmo sperare di ridurre la popolazione dei vettori anche in aree viciniori ai campi controllati sulle quali non potremmo intervenire direttamente.

Le azioni proposte configurano, quindi, una strategia IPM contemporaneamente Preventiva e Protettiva nei confronti di nuove infezioni e superinfezioni, da applicarsi a livello di comprensorio (Wide Area).

Quanto schematizzato riporta l'essenziale dello stato dell'arte riguardo alla strategia IPM elaborata. Tale strategia integrata di controllo (IPM) non può essere considerata definitiva, ma comunque utile a un immediato conteni-

mento delle popolazioni dei vettori. Ulteriori e numerose azioni, ancillari rispetto alle principali, sono in corso di elaborazione, con particolare attenzione ai rispettivi costi e alle scelte di opportunità per la loro applicazione.

#### PROSPETTIVE E ULTERIORI ASPETTI DI STUDIO

Le prospettive d'indagine richiedono di approfondire le nostre conoscenze sulla dimensione della popolazione del vettore, sulla attitudine degli individui adulti a spostarsi, e sull'intensità dei fattori di regolazione naturali. Questo al fine di costruire delle tavole di mortalità che ci servano sia per regolare l'intensità dei fattori di mortalità artificiali da imporre alla popolazione dei vettori riducendone la capacità di trasmettere il patogeno, sia per verificare l'efficacia e la corretta esecuzione degli interventi di controllo. Tanto al fine di formulare, quanto prima, delle previsioni di tempo/efficacia dell'IPM dei vettori, che permettano di individuare un nuovo punto di equilibrio nella gestione fitosanitaria dell'olivicoltura nell'area interessata dal CoDiRO.

#### RIASSUNTO

Il Complesso del Disseccamento Rapido dell'Olio (CoDiRO) è una nuova malattia che danneggia e uccide gli olivi nel Salento ed è causata dal batterio xylematico *Xylella fastidiosa*. Tale microorganismo è diffuso dal *Philaenus spumarius* L. (Hemiptera Aphrophoridae) comunemente noto come "Sputacchina". Grazie a una campagna annuale di catture e osservazioni precisiamo quei dettagli della biologia e dell'etologia del vettore che sono utili al suo controllo. La sputacchina svolge una generazione per anno, sverna come uovo e compie lo sviluppo preimmaginale prima dell'estate. Gli adulti si trovano dall'estate al tardo autunno, quando le femmine depongono le uova. Il *Philaenus* compie brevi spostamenti attivi seguendo la vegetazione delle piante ospiti erbacee e dell'olivo e lunghi spostamenti passivi come "autostoppista" sui mezzi di trasporto offerti dall'uomo. Inoltre, il vettore passa dalle piante erbacee all'olivo, e poi nuovamente alle erbacee compiendo spostamenti verticali stagionali. Proponiamo una strategia di controllo del vettore, in base alle conoscenze acquisite sulla biologia ed etologia della specie.

#### ABSTRACT

*Xylella fastidiosa* is a xylematic bacterium exclusively transmitted by insect. In the recent CoDiRO disease spread, the *Philaenus spumarius* (L. 1758) (Aphrophoridae, AKA Sputacchina, Spittlebug, Meadow Spittlebug) proven to be an efficient and probably the efficient vector. Three further xylem sap feeders identified in the area, namely *Neo-*



*philaenus campestris* Fallen 1805 (Aphrophoridae), *Cercopis sanguinolenta* Scopoli 1763 (Cercopidae), and *Cicada orni* L. 1758 (Cicadidae), have not yet proven to transmit *Xf*.

The spittlebug is univoltine with overwintering eggs, juveniles in spring and adults in summer-fall. The latter instar seems to be the only one responsible of the pathogen spread, but just during a brief window in olive phenophases.

One-year long lifecycle study led to gather basic biological and ethological information to describe vector seasonal intra- and inter- field and host plant shift that results in *Xf* transmission ability. The understanding of the disease epidemiology suggests the scheme of a possible IPM vector control strategy.

## BIBLIOGRAFIA

- CORNARA D., LOCONSOLE G., BOSCIA D., DE STRADIS A., YOKOMI R.Y., BOSCO D., PORCELLI F., SAPONARI M. (2014): *Survey of the Auchenorrhyncha in the Salento peninsula in search of putative vectors of Xylella fastidiosa strain CoDiRO*, International Symposium on the European outbreak of Xylella fastidiosa in Olive, October, 21-24 2014 Gallipoli (Lecce) – Locorotondo (Bari), Italy.
- CORNARA D., PORCELLI F. (2014): *Observations on the biology and ethology of Aphrophoridae: Philaenus spumarius (L.) in the Salento peninsula*, International Symposium on the European outbreak of Xylella fastidiosa in Olive, October, 21-24 2014 Gallipoli (Lecce) – Locorotondo (Bari), Italy.
- DROSOPOULOS S., ASCHE M. (1991): *Biosystematic studies on the spittlebug genus Philaenus with the description of a new species*, «Zool. J. Linn. Soc.», 101, pp. 169-177.
- GOIDANICH A. (1957): *Fileno*, in *Enciclopedia agraria italiana*, REDA, Roma, III, pp. 647-648.
- OSSIANNILSSON F. (1981): *The Auchenorrhyncha (Homoptera) of Fennoscandia and Denmark. Part 2: The families Cicadidae, Cercopidae, Membracidae, and Cicadellidae (excl. Deltocephalinae)*, *Fauna entomologica scandinavica*, vol. 7, Scandinavian Scienca Press Ltd., Klampenborg, Denmark, II, pp. 593.
- SAPONARI M., LOCONSOLE G., CORNARA D., YOKOMI R.K., DE STRADIS A., 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*, «J. Econ. Entomol.», 107 (4), pp. 1-4.
- YURTSEVER S. (1999): *On the Polymorphic Meadow Spittlebug, Philaenus spumarius (L.) (Homoptera: Cercopidae)*, «Turk. J. Zool.», 24, pp. 447-459.



## Aspetti normativi e strategie di contenimento di *Xylella fastidiosa*: una complessa prova di gestione per il sistema di difesa nazionale

Il 9 ottobre 2013 è stato segnalato dal Servizio Fitosanitario della Regione Puglia il ritrovamento dell'organismo nocivo *X. fastidiosa*, in un ampio comprensorio della Provincia di Lecce, tra i patogeni responsabili dei diffusi disseccamenti a carico di piante di olivo descritti come "Complesso del Disseccamento Rapido dell'Olivo" (CODiRO).

La *Xylella fastidiosa* (Welles et al., 1987) è un batterio fitopatogeno gram-negativo non sporigeno appartenente alla famiglia delle *Xanthomonadaceae*, che prolifera nei vasi xilematici delle piante determinandone l'occlusione e, dopo un periodo iniziale di latenza, una serie di alterazioni, a carico del legno, del floema e dello xilema, che portano a bruscature fogliari o al disseccamento della vegetazione e, nei casi più gravi, alla morte della pianta.

Il batterio è trasmesso in natura esclusivamente da alcune specie di insetti appartenenti all'Ordine *Hemiptera*, sub-ordine *Cicadomorpha* (Famiglie *Cicadellidae* e *Aphrophoridae*) che fungono da vettori contribuendo alla diffusione della malattia a breve e medio raggio. I vettori tuttavia perdono l'infettività a seguito della muta. Su lunghe distanze, la diffusione è opera dell'uomo attraverso il commercio di materiale vegetale di moltiplicazione infetto.

Per l'elevato rischio fitosanitario a esso associato, *X. fastidiosa* è inserito nella lista dei patogeni da quarantena dell'Unione Europea (Direttiva 2000/29/CE) e nella lista A1 dell'EPPO (*European and Mediterranean Plant Protection Organization*) come organismo nocivo la cui presenza è sconosciuta nell'Unione e la cui introduzione e diffusione in tutti gli Stati membri è proibita.

\* Direttore del Servizio fitosanitario centrale – Mipaaf

\*\* Direttore del Servizio fitosanitario regionale – Puglia

## DISTRIBUZIONE DEL PATOGENO A LIVELLO MONDIALE E DANNI PROVOCATI

Il batterio si caratterizza per una elevata variabilità genetica e fenotipica. In particolare sono state descritte varianti patogeniche del batterio, spesso ospite-specifiche, distinguibili in 4 sottospecie:

- subsp. *fastidiosa* (agente della malattia di Pierce della vite, ceppi da alfalfa, mandorlo, acero);
- subsp. *sandyi* (ceppi da oleandro);
- subsp. *multiplex* (agente del mal del pennacchio del pesco, ceppi patogeni da olmo, susino, mandorlo, platano);
- subsp. *pauca* (agente della clorosi variegata degli agrumi e comprendente ceppi patogeni su caffè).

Il batterio è stato descritto per la prima volta negli Stati Uniti (California) nel 1987 come agente patogeno della malattia di Pierce su vite e come causa del *Phony Peace Disease* (PPD) su pesco. Successivamente, nel 1993, è stato individuato in Brasile come agente patogeno della Clorosi variegata nel genere *Citrus* (CVC). Attualmente è identificato come causa del *Leaf Scorch* in differenti specie e generi, dal genere *Prunus* e *Citrus*, già citati, al caffè, al Platano, alla Quercia fino alla specie *Medicago sativa* L. Il batterio è pertanto causa di numerose patologie di rilevanza economica a carico di molteplici colture vegetali. La gamma di potenziali ospiti comprende, infatti, oltre 100 specie vegetali, incluse essenze forestali e specie spontanee (dove i sintomi posso anche non manifestarsi).

I danni economici sono ingenti, nella sola California, studi recenti (Julian M. Alston et al., 2012) hanno mostrato come la PD (*Pierce's disease*) comporti un costo pari a circa \$90 milioni all'anno (tra costi dovuti per l'applicazione di misure preventive e perdite di prodotto).

Secondo i dati EPPO (2013), consultabili *on-line*, la distribuzione geografica del patogeno è la seguente:

- Nord America: Canada (Ontario), Messico, USA (Alabama, Arizona, Arkansas, California, Delaware, Distretto della Columbia, Florida, Georgia, Indiana, Kentucky, Louisiana, Maryland, Mississippi, Missouri, Montana, Nebraska, New Jersey, New Mexico, New York, North Carolina, Oklahoma, Oregon, Pennsylvania, South Carolina, Tennessee, Texas, Virginia, Washington, West Virginia);
- Centro America e Caraibi: Costa Rica;
- Sud America: Argentina, Brasile, Paraguay, Venezuela;
- Asia: Taiwan;

- Africa: non presente;
- Europa: Provincia di Lecce (Regione Puglia).

In Europa, fino al mese di ottobre 2013, erano stati registrati solo pochi casi della presenza del batterio in Kosovo e Francia su materiale di vite, non confermati dai successivi campionamenti.

L'ampio numero di specie ospiti, tra cui specie di elevata rilevanza economica, i numerosi insetti vettori, la vasta movimentazione di materiale vegetale a livello mondiale, la natura latente del patogeno e in determinati ospiti anche asintomatica e l'inefficacia di interventi chimici, hanno determinato l'inserimento del batterio tra i patogeni da quarantena.

#### PRIME MISURE DI EMERGENZA: GLI INTERVENTI A CARATTERE NAZIONALE

A seguito del ritrovamento in Puglia, sono state immediatamente avviate le azioni previste dalla normativa nazionale e dell'Unione Europea in materia fitosanitaria al fine di circoscrivere la problematica e scongiurare l'ulteriore diffusione dell'organismo nocivo.

Il 21 ottobre 2013 è stato tempestivamente comunicato alla Commissione europea, all'EPPPO e agli altri Stati membri il ritrovamento dell'organismo nocivo in un'area di vasta estensione nei pressi di Gallipoli e già nella riunione del 22 e 23 ottobre 2013, la problematica è stata discussa nell'ambito del Comitato Fitosanitario Nazionale che, in considerazione della grave minaccia per le produzioni agricole pugliesi e nazionali, ha definito le prime azioni prioritarie, a partire dalla delimitazione delle aree contaminate finalizzate all'elaborazione di un programma di interventi che prevedesse la definizione della zona tampone e un piano di trattamento chimico/biologico dei vettori.

Più in dettaglio, il Comitato Fitosanitario Nazionale affrontando la problematica ha ritenuto necessario provvedere a un monitoraggio specifico per la demarcazione puntuale delle aree colpite dalla malattia, individuando i confini della zona di infestazione dove il patogeno è stato rilevato, nonché l'istituzione di una relativa zona tampone a protezione delle circostanti aree indenni, ritenendo necessario in tali aree adottare specifiche misure per abbattere la popolazione di insetti vettori e il potenziale di inoculo, quali l'applicazione di trattamenti insetticidi su vasta scala e l'eliminazione delle specie sensibili spontanee potenziali serbatoi di infezione del batterio.

In seguito al ritrovamento di *Xylella fastidiosa*, il Servizio fitosanitario pugliese ha provveduto a emanare specifici provvedimenti inerenti misure di emergenza

per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione del batterio, compreso il divieto di movimentazione di piante e di materiale di propagazione sensibile al patogeno.

La normativa fitosanitaria nazionale conferisce, difatti, pieni poteri ai Servizi Fitosanitari Regionali (SFR) per quanto concerne il controllo del territorio di competenza e l'applicazione delle norme vigenti in ambito fitosanitario. In particolare individua nei SFR (art. 50 del D.lgs. 214/2005) i responsabili del controllo e della vigilanza ufficiale sullo stato fitosanitario dei vegetali, coltivati e spontanei, nonché dei loro prodotti in tutte le fasi, dalla produzione alla commercializzazione, al fine di verificare la presenza di organismi nocivi, anche attraverso l'esecuzione di analisi specialistiche. Questi sono, inoltre, responsabili dell'istituzione di zone caratterizzate da uno specifico status fitosanitario e della prescrizione, per tali zone, di tutte le misure fitosanitarie ritenute idonee a prevenire la diffusione di organismi nocivi attraverso l'emanazione di atti normativi regionali.

Contestualmente alle attività di monitoraggio, di seguito descritte in dettaglio, l'emergenza *Xylella fastidiosa* è stata posta all'ordine del giorno di tutte le riunioni mensili del Comitato Fitosanitario Nazionale, che si sono susseguite da ottobre 2013 a luglio 2014, nel corso delle quali sono stati esaminati i costanti aggiornamenti sulla situazione in Puglia e le relative misure attuative.

#### LE ATTIVITÀ DI MONITORAGGIO

##### *Prima Fase. Il monitoraggio nelle Province di Brindisi e Taranto e controllo delle attività vivaistiche*

Il monitoraggio capillare della Provincia di Lecce e delle Province limitrofe di Brindisi e Taranto, essenziale ai fini di una precisa definizione dello *status* fitosanitario del territorio regionale, ha avuto inizio nel mese di novembre 2013 e si è articolato in due fasi successive che hanno portato, dopo 5 mesi di attività, alla definizione delle aree interessate dal patogeno e alla loro delimitazione (zone "focolaio", di "insediamento", "tampone" e di "sicurezza"), nonché alle relative misure di intervento (incluse le disposizioni per l'attività vivaistica e misure preventive su aree non compromesse), in accordo a quanto disposto dalla Deliberazione della Giunta regionale del 29 ottobre 2013, n. 2023.

La mappatura del territorio ha rappresentato un punto essenziale ai fini dell'individuazione di una fascia di contenimento fitosanitario, finalizzata a circoscrivere la diffusione della *Xylella fastidiosa* e a evitare la diffusione del patogeno verso altri territori indenni pugliesi, nazionali e degli altri Stati membri.

In una prima fase, negli immediati due mesi dal ritrovamento di *X. fastidiosa*, le indagini si sono concentrate, oltre che nelle aree di presenza e diffusione del patogeno, nelle Province di Brindisi e Taranto, al fine di verificare che l'organismo nocivo fosse effettivamente confinato nella sola Provincia di Lecce.

La necessità di condurre in via prioritaria un monitoraggio nelle Province limitrofe è stata dettata dall'urgenza di fornire un riscontro immediato alle richieste della Commissione europea che fin dall'immediato aveva preven-tivato il divieto di movimentazione di materiale vivaistico anche dai vivai situati nelle Province di Brindisi e Taranto, dove l'organismo nocivo non era stato riscontrato.

Le indagini sono state condotte in maniera estensiva sull'intera superficie delle due Province ponendo particolare attenzione alle aree perimetrali limi-trofe alla Provincia di Lecce, considerate a maggiore rischio di introduzione dell'organismo nocivo.

Il monitoraggio ha portato al prelievo di oltre 2.000 campioni vegetali e di insetti vettori che sono stati sottoposti ad analisi di laboratorio per la ricerca del batterio. I risultati analitici ottenuti hanno confermato l'assenza del patogeno nel territorio delle due Province monitorate di Brindisi e Taranto.

Contestualmente, sono state condotte indagini mirate presso le aziende vivaistiche, che hanno comportato il prelievo e l'analisi di materiale vegetale appartenente a una vasta gamma di specie commercializzate per l'individuazione di *Xylella fastidiosa*.

Inoltre, uno specifico programma di campionamento è stato condotto presso le ditte vivaistiche che producono materiale viticolo, concentrate essenzialmente nel comprensorio di Otranto, che ha confermato l'assenza di ritrovamento di *X. fastidiosa* su tale specie in tutta la zona contaminata. Infatti, analisi specifiche su piante di vite limitrofe a oliveti infetti non hanno mai restituito risultati positivi al batterio.

Con una comunicazione del 13 dicembre 2013 l'Istituto di virologia Vegetale di Bari (CNR) e l'Università degli studi di Bari hanno confermato che, sulla base delle ricerche e delle analisi effettuate, la *subspecie* riscontrata nella Provincia di Lecce non è correlata al ceppo *X. fastidiosa* agente della malattia di *Pierce*.

Nonostante tali risultati il Servizio fitosanitario regionale ha emanato, a fine dicembre 2013 (nota n. 109838), precise prescrizioni in merito alla commercializzazione del materiale viticolo per la campagna 2013-2014 imponendo l'obbligatorietà di eseguire, prima della commercializzazione, analisi fitosanitarie, presso laboratori accreditati, al fine di verificare l'assenza di *X. fastidiosa*. L'adempimento di questa misura da parte degli operatori vivaistici ha permesso l'effettuazione di analisi su 1.758 campioni di materiale vegetale

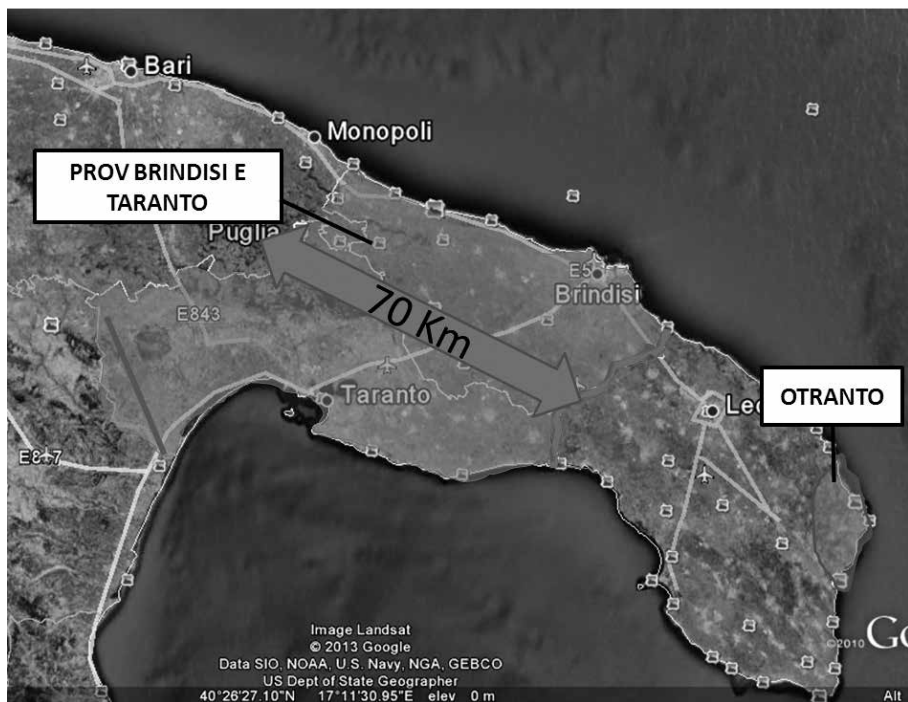


Fig. 1 Aree sottoposte a monitoraggio per *X. fastidiosa* nella prima fase di indagine

viticolo, risultati tutti indenni.

Ulteriori 1.052 campioni, prelevati da 75 differenti specie presso le aziende vivaistiche e garden center della Provincia di Lecce, sono risultati negativi al batterio.

Ulteriori indagine conoscitive a carico delle attività vivaistiche della Provincia di Lecce, sono state condotte dal Servizio fitosanitario regionale al fine di accertare le spedizioni e la commercializzazione di piante suscettibili al patogeno, per un periodo retroattivo di un anno, destinate ad altre aree del territorio nazionale e dell'Unione Europea. I dati sono stati trasmessi ai restanti Servizi fitosanitari regionali e a tutti i Paesi membri al fine di condurre ulteriori accertamenti sul materiale in questione.

### *Seconda fase. Il monitoraggio a maglia*

A partire dal mese di gennaio 2014 ha avuto inizio la seconda fase di monitoraggio finalizzata alla realizzazione di controlli sistematici sull'intero territorio



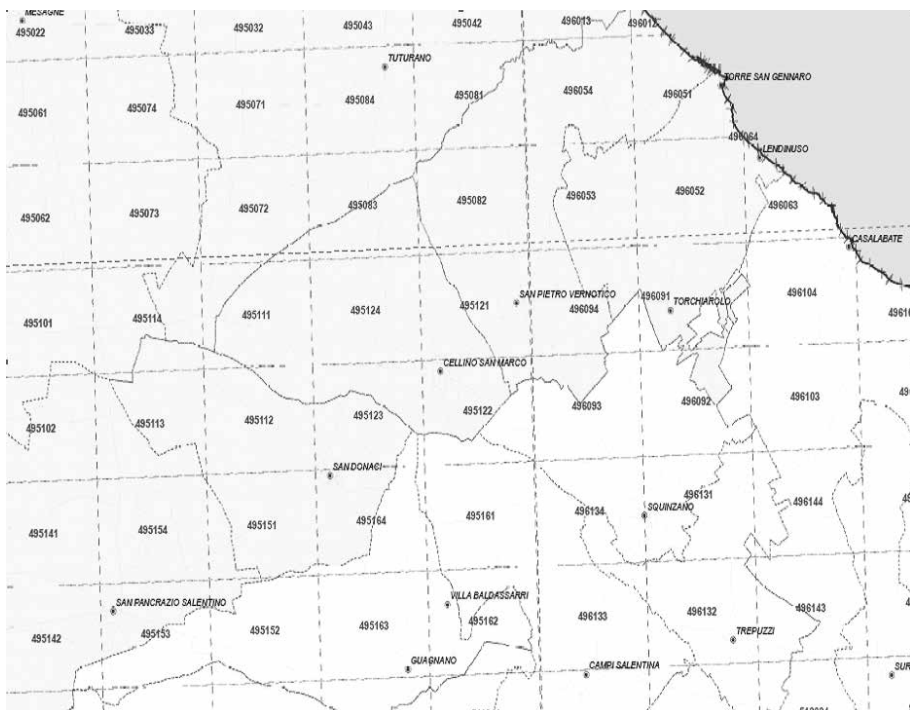


Fig. 2 *Rappresentazione grafica del reticolo di monitoraggio (II fase)*

regionale con l'obiettivo di completare quanto già avviato e definire con precisione le aree contaminate.

Per tale monitoraggio, attuato secondo uno schema "a maglia", sono stati impiegati 27 tecnici (di cui due figure con funzione di coordinamento) e i relativi costi sono stati sostenuti dal Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali e dalla Regione Puglia per un importo totale di quasi 600 mila euro.

Al fine di meglio razionalizzare e organizzare le attività di monitoraggio, l'intero territorio della Regione Puglia è stato suddiviso in maglie con un reticolo di 2,7 x 3,2 km, ognuno con un numero di riferimento geografico identificativo.

Ciascun quadrante identificato è stato oggetto di ispezione visiva per la ricerca di sintomi riconducibili a *X. Fastidiosa*, con una maggiore capillarità nel prelievo dei campioni nei quadranti della Provincia di Lecce e nelle zone limitrofe delle Provincie di Taranto e Brindisi, al fine di individuare il fronte di zona indenne e posizionare la zona tampone.

Il monitoraggio è quindi proseguito negli altri settori più distanti e rica-

PROVINCIA	SETTORI ESAMINATI	N° MINIMO DI CAMPIONI PER SETTORE	TOTALE CAMPIONI	TECNICI	UNITÀ OPERATIVE	COORDINATORI
Bari	180	13	16.000	25	12	2
Brindisi	120					
Lecce	275					
Foggia	100					
Taranto	125					

Tab. 1

denti nelle altre Provincie della Regione di Bari e di Foggia, dove sono state prese in considerazione un numero sufficiente di maglie tali da garantire, nelle aree di maggiore presenza di piante ospiti (olivo e oleandro), l'assenza del batterio.

Il prelievo dei diversi campioni è stato eseguito in siti posti in prossimità delle strade di ogni tipo, secondo il reticolo a maglia sopradescritto e in tutte le province della Regione Puglia, con diversa intensità in funzione del rischio di diffusione del patogeno.

I campionamenti in campo sulle specie di insetti vettori, responsabili della diffusione della batteriosi, sono stati possibili solo per poche settimane poiché il periodo di ritrovamento dell'organismo nocivo, è coinciso con l'entrata nel periodo di quiescenza invernale dei vettori.

Nonostante ciò, nel 2013, è stato possibile effettuare specifici campionamenti che hanno permesso di identificare la specie *Philaenus spumarius* (Hemiptera, Aphrophoridae) come candidato vettore dell'organismo nocivo.

I vettori, oggetto di campionamento, sono stati prelevati, mediante appositi mezzi, negli stessi siti del campione vegetativo o in siti poco distanti per un totale di 3 campioni per maglia del reticolo.

La metodologia di campionamento applicata ha previsto, per ogni ispezione, la redazione di un verbale di sopralluogo e di prelievo dei campioni, contenente tutte le informazioni necessarie per identificare il campo e la specie coltivata, eventuale proprietà/conduzione, la fase fenologica e il quadro sintomatologico delle piante. Tutti i campioni ufficiali raccolti, costituiti da parti vegetative, da foglie, rami ed eventualmente parti di tronco, delle specie ritenute a rischio, sono stati prelevati da Ispettori fitosanitari o da Agenti Fitosanitari nei punti previsti dalla mappatura e nell'area a loro assegnata. Ogni campione è stato contrassegnato con un codice alfanumerico identificativo, per mantenere registrate le informazioni relative a:

- codice dell'Ispettore o dell'Agente;
- data del prelievo;

- numero del reticolo identificativo della mappa;
- coordinate GPS;
- specie campionata;
- n. progressivo del campione.

Tutti i campioni prelevati sono stati posti in apposite buste sigillate nello stesso sito del prelievo e contrassegnati apponendo un cartellino identificativo con il codice alfanumerico sopradescritto.

Gli insetti vettori prelevati sono stati devitalizzati *in situ* prima del loro trasferimento in laboratorio.

Le analisi dei campioni prelevati sono state effettuate da laboratori accreditati dal Servizio Fitosanitario Regionale scelti in base alla prossimità al sito di prelievo, in modo da evitare, a fini precauzionali, la movimentazione del materiale al di fuori della Regione Puglia. Le analisi, finalizzate alla identificazione della *Xylella fastidiosa*, sono state effettuate in prima istanza dai laboratori con il metodo *Enzyme-linked immuno sorbent assay* (ELISA). Analisi di conferma di campioni positivi o finalizzate a dettagliare maggiormente le zone focolaio, sono state effettuare tramite la *Polymerase Chain Reaction* (PCR), presso gli stessi laboratori o su indicazione del SFR presso l'Università di Bari, CNR, Rete Laboratori Pubblici SELGE.

#### ESITI DELL'ATTIVITÀ DI MONITORAGGIO: DELIMITAZIONE DEI FOCOLAI

Alla luce delle attività di monitoraggio condotte sul territorio regionale è stato possibile definire con precisione le aree colpite dalla patologia nella Provincia di Lecce. Nello specifico, sono stati delimitati cinque focolai di cui quattro di dimensioni contenute, situati nella parte settentrionale della Provincia, vicino Lecce, e un'area di vasta estensione nei pressi di Gallipoli (fig. 3).

Quest'ultima costituisce il focolaio iniziale nella quale è stata riscontrata per la prima volta la presenza di *X. fastidiosa* su piante di olivo.

L'area, inizialmente stimata intorno a 8.000 ettari, al termine del monitoraggio ha mostrato una superficie interessata di circa 23.000 ettari. All'interno di questa area è stata valutata una superficie coltivata a olivo di circa 7.000, mentre la restante superficie è interessata da altre colture (arboree, vigneti e seminativi), da aree incolte, da ampie zone urbanizzate, zone naturali, zone umide, strade, spiagge, ecc.. La relativa zona tampone individuata è di circa 4.818 ettari (fig. 4).

Laddove sono state riscontrate piante contaminate dall'organismo nocivo



Fig. 3 Mappa delle aree demarcate per *X. fastidiosa* nella Provincia di Lecce (1. Trepuzzi, 2. Lecce, 3. Copertino, 4. Galatina, 5. Sternatia, 6. Gallipoli)

è stato condotto un monitoraggio intensivo per una definizione puntuale dei confini dell'area demarcata.

In particolare il monitoraggio, nella zona intorno alla pianta ritrovata infetta e per un raggio di 100 m, è stato attuato mediante il campionamento e l'analisi di tutte le piante presenti con particolare riguardo all'olivo. In caso di ulteriore risultato positivo delle analisi l'area da monitorare è stata allargata di ulteriori 100 m.

Il Servizio fitosanitario regionale ha ufficialmente istituito un'area demarcata costituita da una zona contaminata, dove l'organismo nocivo è stato rilevato, e dalla relativa zona tampone.

L'estensione della zona tampone è stata pari a 1 km, a partire dal confine della zona contaminata, determinata sulla base della capacità di volo degli insetti vettori, tenendo in considerazione la possibile influenza del vento e i fattori moltiplicativi di sicurezza.

La Regione Puglia, sulla base dei risultati del monitoraggio effettuato, ha adottato un provvedimento (Delibera del Governo della Regione Puglia n. 580 del 2 aprile 2014) per affidare a un proprio Ente strumentale (Agenzia regionale per le attività irrigue e forestali) le operazioni di abbattimento degli alberi infetti rinvenuti nei cinque focolai circoscritti.



Fig. 4 Zona contaminata del focolaio di Gallipoli

#### ATTIVITÀ DI RICERCA

Il genotipo riscontrato nella Provincia di Lecce e la gamma di ospiti attaccati non ha trovato corrispondenza con le informazioni a disposizione sulle sottospecie di *X. fastidiosa* a oggi riconosciute e si è reso pertanto necessario approfondire gli studi sulle tecniche diagnostiche e di lotta, sulla caratterizzazione e sull'epidemiologia del ceppo batterico, che hanno impegnato attivamente gli esperti di diverse istituzioni scientifiche regionali, quali il CNR (Istituto per la Protezione Sostenibile delle Pianta - IPSP di Bari), l'Università degli Studi di Bari (Dipartimento di Scienze del Suolo della Pianta e degli Alimenti) e l'Istituto Agronomico Mediterraneo di Valenzano-Bari (IAMB).

È importante evidenziare che l'emergenza fitosanitaria scoppiata in Provincia di Lecce rappresenta un caso-studio del tutto "nuovo":

a) il "CoDiRO" a cui è stata associata la presenza di *Xylella fastidiosa* è una malattia molto grave e mai segnalata prima d'ora su olivo;

b) l'olivo è un ospite "nuovo" per il batterio, quindi non vi sono dati relativi al processo di infezione, moltiplicazione, movimento e traslocazione in

una pianta di olivo; nonché dati disponibili sulla patogenicità del batterio su questa specie;

c) è la prima volta che il batterio viene rinvenuto nel continente europeo e nell'area del Mediterraneo, ove gli ecosistemi agrari, forestali e naturali sono ben diversi da quelli ove il patogeno è insediato da tempo, e dove è ben caratterizzata la gamma di ospiti e le popolazioni dei vettori;

d) l'olivo è una pianta arborea sempreverde con un ciclo vegeto-produttivo diverso da quello di altre specie notoriamente ospiti del batterio, come la vite, per le quali il ciclo biologico del batterio è stato ampiamente caratterizzato in relazione alle diverse fasi vegetative dell'ospite e all'andamento climatico.

Le attività di ricerca condotte dagli Enti sopra elencati hanno permesso l'isolamento del batterio e la sua completa caratterizzazione. Le indagini genetiche, condotte in collaborazione con i maggiori esperti mondiali di *Xylella*, hanno confermato che il ceppo identificato a Lecce è da ritenersi una variante atipica della sub-specie *pauca*, il cui areale di origine è stato individuato in Centro America e precisamente in Costa Rica. In quest'ultimo Paese, infatti, è stata recentemente registrata una contaminazione a carico dell'oleandro, attualmente oggetto di maggiori indagini.

Per quanto concerne la gamma di ospiti del batterio, sono state riscontrate infezioni, oltre che su olivo, a carico di oleandro, mandorlo, vinca, e più recentemente, ciliegio, mentre non sono risultate suscettibili vite e agrumi.

Restano tuttavia numerosi aspetti da sviluppare attraverso iniziative di ricerca mirate ad acquisire dati relativi a biologia e l'interazione ospite-patogeno, la suscettibilità delle numerose specie vegetali, l'epidemiologia, suscettibilità varietale e l'implementazione di tecniche diagnostiche.

Tutti gli aspetti sopra elencati risultano strategici nell'identificazione e sperimentazione delle strategie di contenimento per ridurre l'impatto e la pressione d'inoculo.

Nello specifico, assume una particolare rilevanza lo studio dei potenziali ospiti vegetali del batterio, attraverso la realizzazione di specifici test di patogenicità, e degli insetti vettori del patogeno.

#### RAPPORTI CON LA COMMISSIONE EUROPEA

La problematica relativa al primo ritrovamento di *X. fastidiosa* nel territorio dell'Unione è stata immediatamente inserita nei lavori del Comitato Fitosa-

nitario Permanente a Bruxelles, permettendo all'Italia di presentare nel dettaglio le misure adottate nelle prime fasi di gestione della problematica.

Quasi contestualmente, nel mese di novembre 2013, l'EFSA ha presentato gli esiti di una valutazione, effettuata su incarico della Commissione europea, in merito all'identificazione delle possibili vie di introduzione e delle misure di riduzione del rischio associate a *X. fastidiosa*. Le piante destinate alla piantagione sono state identificate come principale *pathway* su cui concentrare l'adozione di misure di restrizione.

Sulla base degli studi EFSA e delle indagini condotte nella Regione Puglia, la Commissione europea ha emanato la Decisione 2014/87/UE del 13 febbraio 2014 "Relativa alle misure per impedire la diffusione nell'Unione di *Xylella fastidiosa*", che ha disposto il divieto di movimentazione delle piante destinate alla piantagione al di fuori della Provincia di Lecce, Decisione immediatamente applicata dalla Regione Puglia con la Determina n. 31 del 27 febbraio 2014 "Disposizioni regionali in attuazione della Decisione di esecuzione della Commissione 2014/87/UE del 13 febbraio 2014".

Al fine di discutere la gestione dell'emergenza fitosanitaria causata da *X. fastidiosa* sono stati organizzati diversi incontri in videoconferenza con la DG SANCO (*Directorate General for Health and Consumer Affairs*) della Commissione Ue, nel corso dei quali, tra le altre cose, è stato definito un programma di intervento cofinanziato dall'Unione Europea pari a un contributo del 50% dei costi sostenuti dall'Italia per le attività di monitoraggio ed eradicazione della batteriosi.

Su iniziativa della Commissione europea, nel mese di febbraio 2014, è stato condotto dal "Food and Veterinary Office" (FVO) un audit nella Provincia di Lecce con l'obiettivo di verificare i controlli ufficiali effettuati dalle autorità competenti italiane in relazione alla batteriosi.

La Commissione ha mostrato profonda preoccupazione per i risultati emersi dall'audit, sollecitando le autorità italiane a notificare i risultati definitivi delle attività di indagine svolte e ogni ulteriore informazione circa la presenza del patogeno in altre aree d'Italia, al fine di consentire una tempestiva revisione della norme UE entro i termini previsti dalla Decisione 2014/87/EU.

La Commissione ha inoltre ribadito la necessità di intensificare le attività di ricerca sulla caratterizzazione del ceppo di *Xylella fastidiosa* presente in Puglia, la determinazione della gamma di piante ospiti, l'identificazione dei suoi vettori e lo sviluppo di metodi affidabili e validati per l'accertamento del batterio in tutti i suoi ospiti, dati cruciali per il riesame delle misure UE contro *Xylella fastidiosa*.

## IL PIANO DI AZIONE NAZIONALE PER IL CONTENIMENTO DELLA BATTERIOSI

Al fine di soddisfare le urgenti richieste avanzate dalla Commissione, il Servizio Fitosanitario Centrale ha predisposto, di concerto con il Servizio fitosanitario della Regione Puglia, un dettagliato Piano d'azione nazionale per il controllo della batteriosi.

Il Piano definisce le misure fitosanitarie ufficiali da adottare sul territorio nazionale al fine dell'eradicazione dei focolai di *Xylella fastidiosa* (misure nella zona contaminata, nella zona tampone, monitoraggio nelle aree demarcate e nella Provincia di Lecce), la sorveglianza delle attività vivaistiche in aree indenni, i requisiti per la movimentazione delle piante ospiti dalle aree demarcate istituite sul territorio in seguito al ritrovamento dell'organismo nocivo, il monitoraggio nazionale e gli interventi di ricerca sperimentale.

Le misure di eradicazione nelle aree demarcate sono state definite in funzione delle diverse caratteristiche dei focolai. Nei cinque focolai di limitate dimensioni è stata prevista la completa eliminazione delle piante infette e l'attuazione di interventi complementari mirati all'abbattimento delle popolazioni di insetti vettori e all'eliminazione delle infestanti. Nel focolaio di Gallipoli, considerata l'estensione elevata, sono state previste misure di eradicazione concentrate inizialmente sulla fascia perimetrale della zona contaminata.

Nel Piano è stata, inoltre, avanzata la richiesta di cofinanziamento per le spese di eradicazione sostenute e previste per l'anno 2014.

Il piano d'azione così articolato è stato approvato dal Comitato Fitosanitario Nazionale nella seduta dell'8 aprile 2014 e successivamente presentato alla Commissione UE nell'ambito del Comitato Fitosanitario Permanente a Bruxelles.

L'elaborazione del Piano ha comportato uno sforzo notevole da parte delle autorità fitosanitarie nazionali e regionali pugliesi, soprattutto in considerazione del carattere di urgenza che questo ha assunto in vista della revisione delle misure comunitarie e non solo. La quantificazione delle superfici sulle quali applicare le misure di contenimento ha richiesto un confronto continuo tra il Servizio Centrale e la Regione Puglia facendo emergere problematiche legate a un eventuale intervento economico a sostegno degli agricoltori.

I risultati emersi dalle indagini effettuate e i dati tecnico-scientifici a disposizione sono stati oggetto di ampie discussioni e approfondimenti in seno al Comitato Fitosanitario Permanente a Bruxelles, ai quali la delegazione italiana, supportata dal Servizio fitosanitario della Regione Puglia, ha attivamente partecipato. Tutto ciò ha portato all'adozione del nuovo testo di Decisione, entrato in vigore il 27 luglio 2014 (Decisione 2014/497/UE).



La Decisione definisce in dettaglio i requisiti per la movimentazione nell'Unione di piante ospiti del batterio e misure di eradicazione che prevedono, tra l'altro, l'abbattimento di tutte le piante infette riscontrate sul territorio e l'esecuzione di un intenso campionamento nelle aree contaminate, introducendo specifiche misure fitosanitarie per il controllo delle piante ospiti in importazione originarie di quei Paesi Terzi in cui è nota la presenza del batterio.

#### NUOVI ELEMENTI ED EVOLUZIONE DELLA STRATEGIA DI CONTROLLO E CONTENIMENTO

Sulla base delle discussioni avviate a Bruxelles, il Servizio Fitosanitario Centrale ha subito avviato l'elaborazione di un Decreto nazionale di lotta obbligatoria, comprensivo di tutte le misure di emergenza contenute nel Piano di eradicazione presentato, dei requisiti per un monitoraggio nazionale specifico nonché dell'istituzione di un gruppo di supporto tecnico-scientifico.

Nuovi elementi sono, tuttavia, emersi nel corso del Comitato Fitosanitario Nazionale del 16 luglio u.s. dove il Servizio Fitosanitario della Regione Puglia ha comunicato il peggioramento della situazione nella Provincia di Lecce, dovuto alla diffusione del patogeno in nuove aree, l'individuazione di nuove piante ospiti, tra cui il ciliegio e la carente disponibilità di risorse finanziarie e di personale per le attività di monitoraggio ed eradicazione.

In virtù delle nuove evidenze acquisite si è reso necessario rivedere le strategie di controllo e contenimento contenute nella prima stesura del Decreto nazionale di lotta obbligatoria per *Xylella fastidiosa*.

Per far fronte a tale situazione allarmante, un serrato confronto ha determinato la revisione delle azioni da adottare per il contrasto a tale batteriosi, riprese e sviluppate nel successivo decreto di lotta obbligatoria nazionale.

In tale contesto, la Regione Puglia ha indicato la gran parte della Provincia di Lecce "zona infetta" e ha proposto una "zona cuscinetto", a ridosso dell'area infetta, e un ulteriore "cordone sanitario" (barriere protratte dallo Ionio all'Adriatico) per impedire la diffusione a Nord del Salento.

È stato inoltre istituito un Comitato tecnico scientifico, a supporto del Servizio fitosanitario nazionale, a cui sono chiamati a partecipare i maggiori esperti della materia, nazionali e internazionali, per disporre di tutte le conoscenze scientifiche disponibili a supporto della definizione delle misure di contenimento da adottare.

Stante la diffusione dell'infezione allargata a gran parte della Provincia di Lecce, si è infine deciso di aprire subito una nuova fase di confronto con la

Commissione europea per adattare, modificare o integrare le misure oggetto della citata Decisione del 23 luglio nell'ambito delle "zone infette", e quindi aggiornare e attivare concretamente il Piano d'azione nazionale, già presentato alla Commissione Ue.

#### IL DECRETO MINISTERIALE DI LOTTA OBBLIGATORIA

Con il decreto 26 settembre 2014 (G.U. del 14 ottobre 2014) sono state ufficializzate le misure di emergenza per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di *Xylella fastidiosa* (Well e Raju), previste dal Piano, sull'intero territorio italiano.

Detto provvedimento, oltre a recepire le disposizioni fitosanitarie contenute nella decisione 2014/497/UE del 23 luglio 2014, definisce specifiche prescrizioni per il territorio nazionale, e in particolare, per la Provincia di Lecce.

Le indagini per la ricerca di *Xylella fastidiosa* sono state estese all'intero territorio nazionale e includono, altresì, le recenti specie vegetali ospiti di *Xylella* riscontrate nel Salento, non incluse della decisione europea.

Tutti i Servizi fitosanitari regionali hanno l'obbligo di svolgere nel proprio territorio regionale, sulla base di uno specifico piano di monitoraggio, indagini annuali sul territorio di competenza che consistono in esami visivi e nel prelievo di campioni per le relative analisi di laboratorio. Per l'individuazione della possibile presenza del batterio sul territorio, devono essere sottoposti a test analitici per la ricerca dell'organismo specificato anche campioni di insetti vettori, accertati o potenziali.

Il decreto elenca i principali ambiti di indagine, considerati a maggior rischio, dove concentrare le attività e rendere così più efficace il monitoraggio.

Nell'attività di indagine i Servizi possono fare affidamento sul supporto delle Agenzie o Enti regionali e, in particolare, delle strutture territoriali del Corpo Forestale dello Stato.

I risultati delle attività svolte dai Servizi regionali, corredati da un'adeguata rappresentazione cartografica, dovranno essere comunicati annualmente al Servizio fitosanitario centrale del Mipaaf al fine di avere un quadro aggiornato e puntuale per tutto il territorio nazionale.

È stata prevista, inoltre, una campagna di informazione per dare la massima divulgazione della pericolosità dell'organismo specificato, della conoscenza dei sintomi e delle tecniche di lotta e prevenzione affinché gli operatori professionali e la cittadinanza siano informati dei rischi e delle misure da prendere, in caso di infezione.

Il decreto vieta la detenzione o la movimentazione a qualunque titolo del batterio e regolamenta, inoltre, l'attività di ricerca scientifica, da potenziare, che può essere svolta previa autorizzazione del Servizio fitosanitario nazionale.

Considerato che il batterio, diffuso nel Continente americano, è arrivato in Europa attraverso il commercio di materiale vegetale infetto, è stata data applicazione ai requisiti necessari per l'importazione di vegetali ospiti dai Paesi terzi dove è nota la sua presenza.

Parallelamente, sono stati definiti analoghi requisiti per la produzione e la movimentazione di vegetali ospiti originari delle aree focolaio presenti in Italia.

Nel caso in cui si riscontri la presenza di *Xylella fastidiosa* su territori oggi considerati indenni, il Servizio fitosanitario regionale competente deve tempestivamente istituire una zona delimitata al fine di attuare le necessarie misure fitosanitarie ed evitare che si verifichi un ulteriore diffusione della batteriosi.

Anche per questi nuovi ritrovamenti, la zona delimitata è costituita dall'area infetta, dove il batterio è stato rilevato, e da una zona tampone che circonda e isola il focolaio dal restante territorio indenne. Le misure da attuare nella zona delimitata includono la distruzione di tutti i vegetali contaminati e l'attuazione di un campionamento intensivo nell'area, con l'obiettivo di individuare le possibili fonti di infezione ed eradicare il focolaio.

Inoltre, per contrastare la diffusione della batteriosi, sono prescritti adeguati interventi sui vegetali che possono ospitare gli insetti vettori, che comprendono trattamenti insetticidi e interventi agronomici.

Tali disposizioni non si applicano per la Provincia di Lecce, per la quale sono state definite specifiche misure, che tengono conto della situazione presente in quelle aree e non prevedono abbattimenti generalizzati sull'intero territorio provinciale.

Per la Provincia di Lecce è stata infatti definita, sentito il parere del neo-costituito Comitato tecnico-scientifico per *Xylella*, una strategia di intervento che prevede la creazione di una doppia fascia di protezione ai confini provinciali, che si estende trasversalmente tra Ionio e Adriatico, dove concentrare le attività di contrasto alla batteriosi e creare una zona di protezione a tutela delle restanti aree indenni del territorio regionale e nazionale.

La prima fascia è rappresentata da una zona cuscinetto a ridosso dell'area infetta, di 2 km di ampiezza. Un'ulteriore barriera di sicurezza indicata come "cordone fitosanitario, è posta a nord della "zona cuscinetto", a opportuna distanza dalla stessa, anch'essa con larghezza di 2 km.

Nella zona cuscinetto e nel cordone fitosanitario il Servizio fitosanitario della Regione Puglia garantisce l'attuazione di:



Fig. 5 *Zona infetta (a sud), zona cuscinetto (al centro) e cordone fitosanitario (a nord)*

- trattamenti insetticidi per il controllo delle popolazioni di insetti vettori accertati o potenziali;
- interventi agronomici contro gli stadi giovanili dei vettori e per il controllo delle piante spontanee erbacee;
- eliminazione di tutte le piante ospiti presenti in alberature stradali, spartitraffico, fossi, canali, aree verdi, ecc.;
- monitoraggio intensivo delle piante ospiti per la ricerca dell'organismo specificato nel periodo più opportuno.

Inoltre, al fine di contrastare la diffusione del batterio e salvaguardare la zona cuscinetto, è stato deciso di attuare le stesse misure fitosanitarie previste nelle zone sopra citate, nonché l'eliminazione di tutte le piante infette o ritenute tali sulla base di ispezioni visive, anche nella fascia di 1 km di zona infetta contigua alla zona cuscinetto.

Ulteriori misure fitosanitarie obbligatorie da attuare nella zona infetta della Provincia di Lecce sono in corso di adozione con successivo provvedimento del ministro delle politiche agricole alimentari e forestali, sulla base delle proposte formulate dal Comitato fitosanitario Nazionale.

Per attuare le misure nella Provincia di Lecce è stato previsto il coinvolgimento del Corpo Forestale dello Stato e dell'Ispettorato centrale per la tutela della qualità e la repressione delle frodi, in particolare per quanto concerne l'effettuazione del monitoraggio a livello nazionale nonché i controlli nella Provincia di Lecce.

#### RISORSE FINANZIARIE

Per far fronte a questa emergenza fitosanitaria il Ministero e la Regione Puglia si sono attivati per reperire le risorse finanziarie necessarie a supportare le attività di lotta a *Xylella fastidiosa*.

Oltre alla somma stanziata dal Mipaaf alla fine del 2013, di circa 200 mila euro, per condurre il monitoraggio puntuale del territorio, nella Legge di Stabilità 2014 del 27 dicembre 2013 è stata autorizzata una spesa di euro 5 milioni per alcune attività tra cui il potenziamento del Servizio fitosanitario nazionale, con particolare riferimento all'emergenza provocata dal batterio *Xylella fastidiosa* (Well e Raju). Più in dettaglio, con successivo decreto del ministro è stato destinato l'importo di Euro 2.630.430,00 all'attuazione delle misure urgenti nella Provincia di Lecce per fronteggiare il rischio di diffusione del batterio.

Contestualmente, sono state attivate le procedure per accedere al cofinanziamento per il 2014 dell'Unione Europea per le attività di eradicazione in campo fitosanitario, presentando una specifica richiesta per il focolaio di *Xylella fastidiosa* in Puglia. Il programma, approvato dal Comitato fitosanitario nazionale, prevede misure che usufruiranno di una partecipazione finanziaria pari al 50% dei costi sostenuti dall'Italia.

Si fa presente, inoltre, che nell'ambito dei fondi trasferiti dal Mipaaf a supporto del potenziamento dei Servizi fitosanitari regionali e i monitoraggi per le varie emergenze fitosanitarie in atto, sono stati assegnati al Servizio fitosanitario della Regione Puglia, per le annualità 2013 e 2014, fondi per complessivi 600 mila euro circa.

#### IL CASO XYLELLA FASTIDIOSA IN PUGLIA ESEMPLIFICATIVO DELLE CRITICITÀ DEL SISTEMA NAZIONALE DI PROTEZIONE DELLE PIANTE

*Necessità di idonee dotazioni di uomini e mezzi  
e coinvolgimento delle Autorità presenti sul territorio*

L'emergenza fitosanitaria provocata da *Xylella fastiosa*, gestita sul territorio

Sedi periferiche	45 in 105 provincie
Punti di entrata (sia aerei che portuali)	55
Laboratori	26
Aziende soggette a controllo obbligatorio almeno una volta l'anno	18.521
Certificati per partite in importazione	22.699
Certificati per partite in esportazione	53.466
Ispettori fitosanitari e tecnici di supporto	445
Personale temporaneo per monitoraggi	185

Tab. 2

dal Servizio fitosanitario della Regione Puglia, va ben oltre la normale attività gestibile da un solo Ufficio regionale a causa delle numerose limitazioni gestionali-amministrative che si sono evidenziate nel corso dei mesi e rappresenta bene le criticità che caratterizzano ogni emergenza fitosanitaria sul territorio nazionale.

L'ampiezza del territorio interessato, la complessità degli interventi, la tipologia delle zone di intervento (centri abitati, strade, parchi e giardini, zone incolte, ecc.), le numerose Amministrazioni locali coinvolte direttamente e indirettamente (Comuni, Provincie, ANAS, Enti parco, Consorzi di bonifica, Associazioni di categoria, ambientaliste, ecc.) comportano una notevole difficoltà nel mantenere un adeguato livello di coordinamento dell'intervento, necessario per far fronte agli adempimenti richiesti.

A tutt'oggi, non si è riusciti a dare completa applicazione alle norme contenute nel d.lgs. 214/05, nonostante questo abbia dato nuovi impulsi e strumenti all'attività del Servizio fitosanitario nazionale rendendolo più attinente alle nuove necessità; le attuali strutture del Servizio fitosanitario nazionale, seppur migliorate nel corso del tempo, vedono una forte limitazione della loro capacità di intervento, apparendo spesso inadeguate a svolgere il proprio compito di controllo e sorveglianza del territorio nazionale, proprio in relazione alle limitate risorse che le Amministrazioni regionali assegnano a tali attività.

Già nel 2009, il perdurare del mancato perfezionamento dell'organizzazione del Servizio fitosanitario nazionale nelle sue componenti, ha portato la Commissione UE ad avviare una procedura di infrazione comunitaria in merito alla mancata applicazione delle norme fitosanitarie.

A seguito di ciò è stata effettuata un'analisi approfondita che ha permesso di identificare i parametri tecnici con i quali ridefinire la necessità di personale del Servizio fitosanitario nazionale, alla luce delle molteplici attività di competenza definite dagli articoli 49 e 50 del citato d.lgs. 214/05.

Le attività di controllo che devono essere svolte dai 19 Servizi regionali e dai 2 Servizi delle Province di Trento e Bolzano, sono caratterizzate dai numeri riportati nella tabella 2.

Considerando che gli interventi per le emergenze fitosanitarie si aggiungono alle attività di controllo obbligatorie definite dalla normativa europea di settore, appare evidente l'insufficiente dotazione di personale e di mezzi.

A tutt'oggi nessuna Regione è riuscita a individuare le risorse necessarie per procedere all'adeguamento del Servizio fitosanitario nazionale, così come evidenziato dall'intesa sul rafforzamento del Servizio fitosanitario nazionale tra Stato e Regioni siglata nell'aprile del 2010, che identifica, tra l'altro, le idonee dotazioni di organico per ogni Servizio fitosanitario regionale, prevedendo nel complesso 668 Ispettori fitosanitari, 231 tecnici di supporto e 104 amministrativi.

Le necessarie misure fitosanitarie di eradicazione o di contenimento, troppo spesso, non hanno ottenuto gli effetti previsti perché messe in atto con eccessiva lentezza o con limitato intervento, compromettendo la loro stessa efficacia strettamente legata alle necessità di drasticità e immediatezza.

Come già sottolineato, gli interventi di controllo di un organismo nocivo richiedono l'azione di molteplici soggetti che ricadono sul territorio considerato. Al verificarsi di una emergenza fitosanitaria, le strutture Amministrative e di Gestione (Comuni, Province, ANAS, Enti parco, Consorzi di bonifica, Associazioni di categoria, ambientaliste, ecc.) coinvolte nel governo dei singoli aspetti del territorio, ognuno con le proprie competenze, devono dare il loro contributo mettendo in atto quanto prescritto per contrastare l'emergenza che si sta verificando, sotto il coordinamento del Servizio fitosanitario nazionale.

In Puglia, la situazione di grave emergenza dovuta alla diffusione del patogeno in vaste aree della Provincia di Lecce, nonché le difficoltà di attuare le azioni obbligatorie previste dal provvedimento emanato è stata da ultimo sottolineata anche dalla Commissione UE e dal presidente della Regione Puglia.

Le difficoltà in merito all'applicazione delle misure definite dal decreto 26 settembre 2014 hanno aperto un confronto dal quale appare necessario dichiarare lo stato di emergenza come definito dalla legge n. 225 del 1992 sulle "calamità naturali, catastrofi o altri eventi che, per intensità ed estensione, debbono essere fronteggiati con mezzi e poteri straordinari" e prevedere la nomina di un commissario ad acta, che potrà avvalersi dei poteri già tipici dei Servizi Fitosanitari e di eventuali poteri straordinari, al fine di risolvere ogni ostacolo alla applicazione delle misure fitosanitarie previste.

Questa esperienza, sottolinea che il Servizio fitosanitario nazionale deve

disporre preventivamente di un efficace sistema di gestione delle emergenze fitosanitarie che permetta la sua immediata applicazione al verificarsi dell'emergenza.

Al riguardo la bibliografia internazionale ci informa che un programma di eradicazione si compone di tre elementi fondamentali:

- il controllo per determinare esattamente la distribuzione dell'organismo nocivo;
- il contenimento per evitare la sua diffusione e le misure di eradicazione per effettuare la sua eliminazione;
- la verifica nel lungo periodo dell'assenza dell'organismo in questione.

Senza entrare negli aspetti propri dei singoli elementi, già ben definiti dallo Standard internazionale ISPM 9 (*Guidelines for pest eradication programmes*), si evidenzia la necessità che il Servizio fitosanitario nazionale adotti un piano nazionale preventivo di gestione delle emergenze (*Contingency Plan*), che identifichi i ruoli, le strutture, le procedure e le fonti finanziarie per gli eventuali programmi di eradicazione. Per ogni organismo nocivo, di cui si teme l'introduzione, sarà definito anche l'eventuale programma di eradicazione (*action plan*) in cui sono descritte preliminarmente tutte le azioni da mettere in atto al verificarsi dell'emergenza.

Questo, può contribuire al risparmio di tempo per le eventuali delibere, le valutazioni preliminari e le investigazioni necessarie, rendendo il programma di eradicazione progettato eseguibile rapidamente e in modo efficace.

È da tenere in considerazione, infine, che al verificarsi dell'emergenza in un territorio, le ordinarie dotazioni di uomini e mezzi del Servizio fitosanitario regionale interessato devono essere adeguatamente incrementate per far fronte all'evidente aumento di attività, nonché alla necessità di sviluppare un adeguato coordinamento dell'azione di tutti i soggetti coinvolti.

#### IL COMITATO FITOSANITARIO NAZIONALE

Nel caso in cui l'emergenza coinvolga più regioni, appare oltretutto prioritario rendere uniforme l'interpretazione circa l'applicazione delle norme comunitarie e nazionali, al fine di ridurre le possibili differenze nelle strategie di controllo e nella organizzazione dei Servizi fitosanitari regionali.

In tale direzione deve essere rafforzata l'attività del Comitato fitosanitario nazionale, istituito dal D.lgs. 214/05, che costituisce il tavolo nazionale per coordinare le attività del Servizio, permettendo di condividere e uniformare le esperienze, al quale la normativa nazionale affida la predisposizione dei



piani di contrasto per le emergenze fitosanitarie sul territorio nazionale. Il Comitato, tra l'altro, approfondisce tematiche complesse, come le emergenze sul territorio, in maniera collegiale istituendo gruppi di lavoro, nei quali sono coinvolti sia esperti fitosanitari, provenienti dalle varie Regioni, che esperti scientifici delle Università e dei Centri di ricerca allo scopo di portare nei gruppi sia le esperienze delle diverse realtà regionali, quali la conoscenza dei sistemi produttivi e le urgenze fitosanitarie del territorio, sia le necessarie conoscenze scientifiche, al fine di individuare le specifiche misure da applicare.

#### ALLOCAZIONE DELLE RISORSE NECESSARIE

Per quanto attiene alla gestione delle emergenze, c'è un altro aspetto che necessita dei dovuti approfondimenti. Gli interventi di eradicazione di un focolaio, anche se sono costosi e spesso colpiscono specifiche categorie, permettono di evitare o spesso di procrastinare ingenti danni in termini di perdite di prodotto, di capacità produttive o di quote di mercato, nonché rilevanti danni ambientali. Le stesse misure fitosanitarie hanno una diretta ricaduta sull'economia di interi territori e sui loro sistemi produttivi. Il danno, pertanto, si configura spesso come un danno collettivo.

L'esperienza insegna che un intervento di lotta obbligatoria ha possibilità di riuscita solo se la collettività si fa carico dei costi, attualmente a carico unicamente dei singoli soggetti direttamente interessati.

Troppo spesso, il singolo interessato è tentato di nascondere un'emergenza il più possibile, per evitare i costi derivanti.

Nonostante la congiuntura economica totalmente sfavorevole, è necessario che si ricerchino tutte le vie possibili, affiancate da un'adeguata base giuridica, anche sotto forma di accordi di categoria o nell'ambito della OCM, per ottenere la giusta allocazione delle risorse necessarie a permettere un intervento rapido ed efficace, sia sotto il profilo dei costi di controllo dell'organismo nocivo che del sostegno alle aziende colpite per coprire i danni diretti dovuti alla presenza dell'organismo nocivo.

#### UTILIZZO DEGLI ENTI STRUMENTALI DELLE REGIONI

Come già sottolineato l'applicazione delle necessarie misure di controllo sul territorio comporta notevoli difficoltà operative legate all'ampiezza del territorio interessato, alla complessità degli interventi, alla tipologia delle zone di

intervento. Inoltre le misure obbligatorie sono demandate ai proprietari dei fondi o ai conduttori a qualsiasi titolo.

Questi possono ritardare l'intervento per i motivi più disparati, manifestare la totale assenza di collaborazione o peggio ancora non essere reperibili. Basti pensare ai numerosi fondi abbandonati.

In tal modo l'efficacia delle misure di intervento è compromessa in quanto strettamente legata alle necessità di drasticità e immediatezza, determinando la diffusione dell'organismo nocivo e dei relativi danni anziché il suo contenimento.

In tale contesto, la sorveglianza dell'applicazione delle misure risulta uno sforzo improbo per ogni struttura di controllo, senza contare che, come sottolineato, tutti i Servizi fitosanitari regionali hanno dotazioni sottodimensionate.

Appare necessario, pertanto, ipotizzare l'utilizzo di una struttura pubblica in grado di effettuare direttamente gli interventi necessari, con la dovuta rapidità ed efficacia. È da sottolineare che la nomina di un commissario straordinario, a seguito della dichiarazione di emergenza, è un intervento che ha una durata breve (6 mesi prorogabili di altri 6), tempo estremamente breve per un programma di eradicazione sul territorio che spesso necessita anni.

A tale fine gli Enti strumentali, di cui tutte le Regioni si sono dotate, potrebbero costituire lo strumento primario per effettuare tutti gli interventi necessari e assicurare che non si tralascino rischiose aree vuote nelle zone di intervento, migliorando la capacità di intervento e semplificando le procedure amministrative.

#### RUOLO DEI SOGGETTI INTERESSATI NELLA DIFESA DELLE PIANTE

Il Servizio fitosanitario nazionale, le Università e gli Enti di ricerca, le Amministrazioni locali (Comuni e Provincie), nonché i Settori produttivi, ma anche altri soggetti presenti sul territorio (ANAS, Enti parco, Consorzi di bonifica, Associazioni di categoria, ambientaliste, ecc.), ognuno con le proprie competenze, svolgono quotidianamente un importante ruolo nella difesa delle piante, delle produzioni e dell'ambiente. Lo stesso singolo cittadino può concorrere, modificando l'attuale approccio alle emergenze, alla creazione di un Sistema Nazionale che rafforzi l'efficacia dell'azione di protezione dei vegetali nei suoi vari aspetti e, quindi, permetta un miglioramento della posizione nazionale nel contesto internazionale.

È evidente che alla base di questo è necessario predisporre una adeguata

campagna di informazione per dare la massima divulgazione della pericolosità dell'organismo specificato, della conoscenza dei sintomi e delle tecniche di lotta e prevenzione, affinché tutti gli operatori professionali e la cittadinanza siano informati dei rischi e delle misure da prendere in caso di infezione.

In questa ottica e non solo per far fronte all'emergenza in atto ma per creare un sistema nazionale di protezione delle piante, devono essere sviluppati i seguenti strumenti:

- collegamento con le Università e gli Enti di ricerca;
- meccanismi di *feed back* con il mondo produttivo;
- meccanismi di allerta per le nuove introduzioni.

Un'azione più coordinata tra tutti i soggetti non può che rafforzare l'efficacia dell'azione di protezione delle piante nei suoi vari aspetti, compreso il risultato delle azioni stesse. Inoltre, la costante circolazione di tutte le informazioni tra i soggetti coinvolti permette uno sfruttamento ottimale delle sinergie e, di conseguenza, una maggiore efficacia nell'azione di ognuno, evitando così eventuali duplicazioni che, in alcuni casi, rischiano di portare a risultati incoerenti o contraddittori.

Infine, se osserviamo, in estrema sintesi, le attività connesse alla protezione delle piante, che si possono riassumere nella partecipazione attiva ai tavoli delle Organizzazioni internazionali, diffusione delle notizie e dei dati internazionali verso i soggetti interessati, applicazione delle normative di settore, condivisione e applicazione delle misure di eradicazione a seguito di emergenze, raccolta delle istanze provenienti dal territorio, tutela del sistema produttivo e del patrimonio ambientale, appare evidente la necessità di un rafforzamento del Servizio fitosanitario centrale, per ottenere un sufficiente coordinamento di tutte le strutture coinvolte nell'ambito di un sistema dotato di procedure chiare e definite.

#### SORVEGLIANZA DEL TERRITORIO

L'emergenza in atto in Provincia di Lecce ha confermato la stretta correlazione che intercorre tra la conoscenza del territorio e la possibilità di avere un rapido ed efficace intervento in caso di emergenze fitosanitarie. Ricevere l'immediata notizia dell'introduzione di un nuovo organismo nocivo significa poter intervenire su un focolaio poco esteso geograficamente, dove l'organismo nocivo non si è ancora diffuso a pieno e dove i danni economici non si sono ancora manifestati, evitando, talvolta, la diffusione di lunga distanza connessa con le attività di commercializzazione e di vivaismo.

La conoscenza e la conseguente sorveglianza del territorio è da ritenersi pertanto, insieme ai controlli all'importazione, l'attività fondamentale di una Organizzazione nazionale di protezione delle piante, anche alla luce del fatto che la Convenzione internazionale per la protezione delle piante richiede la definizione dello *status* fitosanitario di ogni organismo nocivo soggetto a misure fitosanitarie.

Sono interessanti al riguardo le definizioni inserite nello standard n. 5 della IPPC/FAO, relativo al glossario dei termini fitosanitari:

- Surveillance: An official process which collects and records data on pest occurrence or absence by survey, monitoring or other procedures [CEPM, 1996]
- Survey: An official procedure conducted over a defined period of time to determine the characteristics of a pest population or to determine which species occur in an area [FAO, 1990; revised CEP, 1996]
- Monitoring: An official ongoing process to verify phytosanitary situations [CEPM, 1996]

Già da queste definizioni si comprende l'importanza di una riorganizzazione del Servizio fitosanitario nazionale al fine di garantire una costante attività di sorveglianza che permetta, attraverso la messa in atto di tutti gli strumenti utili, una conoscenza del territorio basata su informazioni in tempo reale e non solo su base bibliografica, consentendo così un tempestivo intervento in caso di necessità.

Anche in questa ottica, il coinvolgimento di tutti i soggetti interessati nella difesa delle piante, ognuno con le proprie competenze, permette di attuare un efficace controllo. I numerosi tecnici che intervengono in agricoltura e lo stesso singolo cittadino giocano in tal senso un ruolo essenziale.

È necessario considerare, inoltre, che la normativa comunitaria obbliga al controllo delle produzioni in ogni fase della loro produzione e commercializzazione nel territorio della UE, nonché alla sorveglianza del territorio per vigilare su ogni nuova introduzione di organismi nocivi da quarantena.

Organizzare un buon piano di sorveglianza del territorio consente di ottemperare a tutte queste evenienze e, inoltre, pone le basi per il riconoscimento di equivalenza degli status fitosanitari ai sensi dell'Accordo SPS (Accordo sulle misure sanitarie e fitosanitarie - *Sanitary and Phytosanitary Agreement*).

Per tutto questo, le attività legate alla sorveglianza non devono limitarsi alle semplici osservazioni ma, grazie alla registrazione delle ispezioni, dei comportamenti e delle analisi, devono poter essere mantenute disponibili per ogni evenienza.

Anche in questo caso, l'applicazione dei seguenti ISPMs, consente di uni-

formare le attività del Servizio e facilita l'accettazione da parte dei Paesi Terzi dei risultati delle attività svolte con indubbi vantaggi per le nostre esportazioni:

- ISPM 6: *Guidelines for Surveillance*;
- ISPM 8: *Determination of pest status in an area*;
- ISPM 17: *Pest reporting*.

Per ogni organismo nocivo è necessario delineare, pertanto, uno specifico piano di sorveglianza nel quale dare risposta alle seguenti domande:

- Perché? primo ritrovamento, richiesta dalla legislazione, definizione di *Pest Free Area*
- (PFA), follow-up;
- Cosa? quale organismo nocivo;
- Dove? area geografica, piante ospiti, sistemi di produzione, habitat naturali, ecc.
- Quando? data, frequenza, durata (in funzione di: biologia dell'organismo, espressione dei sintomi, presenza delle popolazioni o dell'accrescimento vegetale).

Una volta definiti gli elementi suddetti, che in definitiva costituiscono l'elaborazione di base circa la necessità del piano di sorveglianza, è fondamentale definire il "Come", specificando la metodologia da applicare ossia il campionamento, la diagnostica, la registrazione dei dati e il *reporting*.

L'adozione di piani di sorveglianza concorre, inoltre, all'uniformità delle scelte e dei dati raccolti, rendendo addizionabili e confrontabili i dati provenienti da differenti Regioni, con il duplice vantaggio di una migliore comprensione in ambito internazionale e della possibilità di utilizzare le informazioni nelle successive elaborazioni, sia scientifiche che strategiche.

Una pianificazione strategica nazionale, che definisca sia i piani di sorveglianza sia quelli ritenuti necessari dal sistema nazionale, eviterebbe la duplicazione delle attività relativa alla continua addizione di nuovi monitoraggi. La migliore allocazione delle risorse, anche in questo caso, non si otterrebbe solo evitando le duplicazioni ma anche stabilendo un ordine di priorità circa gli obiettivi da perseguire a livello nazionale.

Nella tabella 3 sono indicati i principali organismi nocivi di rilevanza nazionale, per i quali sono in atto (o sono ancora da predisporre) attività di sorveglianza.

#### CONTROLLI ALL'IMPORTAZIONE

Il caso *Xylella fastidiosa* ha confermato anche sotto questo profilo che una mag-

FITOPATIA	ORGANISMO NOCIVO
Punteruolo rosso delle palme	<i>Rhinchophorus ferrugineus</i>
Tarlo (Cerambycidae) asiatico	<i>Anoplophora chinensis</i>
Tarlo (Cerambycidae) asiatico	<i>Anoplophora glabripennis</i>
Cinipide del Castagno	<i>Dryocosmus Kuryphilus</i>
Diabrotica del mais	<i>Diabrotica virgifera virgifera</i>
Nematode del pino	<i>Bursaphelenchus xylophilus</i>
Peronospora del Viburno	<i>Phytophthora ramorum</i>
Cancro resinoso del pino	<i>Gibberella circinata</i>
Altica della patata	<i>Epitrix</i> spp.
Nematodi a cisti della patata	<i>Globodera pallida</i> e <i>G. rostochiensis</i>
Marciume bruno della patata	<i>Ralstonia solanacearum</i>
Marciume anulare della patata	<i>Clavibacter michiganensis</i> ssp. <i>sepedonicus</i>
Rogna nera della patata	<i>Synchytrium endobioticum</i>
Virus del mosaico del pepino	Pepino Mosaic Virus (PepMV)
Viroide dell'affusolamento della patata	Potato Spindle Tuber Viroid (PSTVd)
Ampullarie	<i>Pomacea</i> spp.
Vaiolatura (Sharka) delle drupacee	Plum Pox Virus (PPV)
Cancro batterico dell'actinidia	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>actinidiae</i>
Colpo di fuoco batterico delle pomacee	<i>Erwinia amylovora</i>
Flavescenza Dorata della vite	Flavescenza dorata della vite FD, vettore <i>Scaphoideus titanus</i> Ball.
Cancro colorato del Platano	<i>Ceratocystis fimbriata</i> f.s. <i>platani</i>
Tristezza degli agrumi	<i>Citrus</i> Tristeza Virus (CTV)

Tab. 3

giore attenzione alle importazioni in Europa è il presupposto primario per la difesa del nostro territorio. Riuscire a individuare una via di introduzione di un organismo nocivo, prima che venga introdotto realmente, significa in molti casi ridurre a zero i costi di eradicazione connessi alle misure di controllo per impedire la sua diffusione. Pur essendo *X. fastidiosa* un organismo da quarantena per l'Unione Europea, solo dopo l'infestazione in Puglia sono state adottate specifiche misure di controllo sulle importazioni delle piante ospiti.

La continua crescita del volume e delle tipologie degli scambi commerciali internazionali, che avvengono con una velocità sempre crescente, è strettamente connessa alla richiesta sempre più pressante di ridurre al minimo ogni ostacolo al libero scambio internazionale e nel settore della difesa fitosanitaria, tutto questo, significa effettuare i necessari controlli con tempi di sosta sempre minori e, per alcune tipologie di prodotto, ispezionare solo alcune delle spedizioni in arrivo nel paese interessato.

Nel caso specifico del batterio *Xylella fastidiosa*, trattandosi di un organismo da quarantena, anche se la normativa richiede l'esecuzione di controlli

visivi su ogni pianta importata al fine di verificare le eventuali contaminazioni, la mancanza di misure addizionali specifiche di mitigazione del rischio ha determinato una bassa attenzione durante l'effettuazione dei controlli.

Inoltre, proprio per le caratteristiche del batterio, come la possibile asintomaticità, l'individuazione delle piante contaminate non sempre è stata possibile durante l'effettuazione dei controlli.

Considerando il rapporto tra flussi in entrata e intercettazioni effettuate si può concludere che in tutti i punti di entrata dei Paesi comunitari che hanno registrato importazioni di piante ospiti di *Xylella fastidiosa*, l'attenzione a detto patogeno non sempre è stata mantenuta alta.

Generalizzando la valutazione sui controlli ai vegetali in importazione, è necessario sottolineare che i punti di ingresso nazionali manifestano una situazione estremamente diversificata e nonostante il grande flusso di controlli a cui si deve fare fronte, non si dispone ancora di una definizione nazionale delle strutture necessarie allo svolgimento dei controlli fitosanitari e delle procedure necessarie alla gestione delle partite non conformi.

Questo comporta che molti punti di entrata, pur soddisfacendo i requisiti minimi definiti dalla normativa comunitaria, non favoriscano lo svolgimento di efficaci ed efficienti controlli fitosanitari, costringendo a fare i conti con spazi operativi limitati e distanze cospicue tra i locali di controllo e le merci da ispezionare. Per contrappunto esistono punti di entrata dotati di laboratori mobili in grado di effettuare alcuni tipi di esami diagnostici a distanza, in quanto collegati via web ai laboratori e alle sedi universitarie di riferimento. Tutto ciò evidenzia la necessità di una maggiore uniformità delle procedure di effettuazione dei controlli e dei comportamenti, al fine di migliorare la capacità di intercettare eventuali organismi nocivi in importazione.

Un valido strumento può essere rappresentato dall'aggiornamento costante degli ispettori fitosanitari attraverso corsi nazionali, specie se sulla base di un Manuale operativo nazionale.

A questo si deve aggiungere la grande opportunità di standardizzazione offerta dall'applicazione dei numerosi ISPM specifici per i controlli fitosanitari e le importazioni.

ISPM 20 *Guidelines for a phytosanitary import regulatory system;*

ISPM 23 *Guidelines for inspection;*

ISPM 25 *Consignments in transit;*

ISPM 12 *Phytosanitary certificates;*

ISPM 15 *Regulation of wood packaging material in international trade;*

ISPM 13 *Guidelines for the notification of non-compliance and emergency action*;

ISPM 14 *The use of integrated measures in a systems approach for pest risk management*;

Altro fattore limitante ai fini di un efficace sistema di controllo presso i punti di entrata, è rappresentato dalla mancanza di dati relativi ai flussi commerciali in entrata che non consente, tra le altre cose, una idonea valutazione delle reali necessità di ogni singolo punto di entrata. Non risulta, inoltre, nessuna loro distinzione rispetto alle merci in importazione, il che impedisce di formulare eventuali ipotesi circa la specializzazione degli ispettori fitosanitari addetti ai controlli.

La presenza di dati specifici disaggregati sulle importazioni consentirebbe la valutazione del rapporto tra numero di partite importate e le eventuali non-conformità riscontrate, permettendo una graduatoria del rischio in funzione del vegetale e dell'origine; valutazione attraverso la quale si può stabilire il grado di affidabilità del singolo flusso commerciale o del singolo esportatore di ciascun Paese terzo.

Al riguardo, tuttavia, è necessario evidenziare che, con le attuali dotazioni del Servizio fitosanitario nazionale, la mole di controlli obbligatori che devono essere svolti non permette l'effettuazione dei controlli random sulle merci non soggette a controlli obbligatori, così come previsto dalla normativa comunitaria.

#### RIPENSARE UNA NUOVA STRUTTURA DELL'ORGANIZZAZIONE NAZIONALE PER LA PROTEZIONE DELLE PIANTE

Le numerose attività connesse alla difesa del territorio e alla gestione delle emergenze, fin qui illustrate, indicano che è necessario ripensare a una nuova struttura dell'Organizzazione nazionale per la protezione delle piante che, a partire da tutti i soggetti e le strutture esistenti nel mondo agricolo, sviluppi una reale capacità di intervento sul territorio.

Devono essere identificate le strutture e i soggetti da coinvolgere in un nuovo assetto del SFN, al fine di individuare il contributo specifico che ognuno di essi può recare per la realizzazione di un sistema nazionale che permetta un'azione efficace in tutti gli ambiti della difesa delle piante, dal controllo preventivo sino a un immediato sistema di intervento per risolvere le emergenze sul territorio.



Appare quindi necessario riorganizzare la capacità operativa, tecnica e amministrativa del Servizio fitosanitario nazionale in tutti i seguenti aspetti che lo caratterizzano:

- controllo delle importazioni;
- definizione di un sistema di allerta;
- controllo del territorio;
- gestione delle emergenze fitosanitarie;
- formazione e aggiornamento del personale ispettivo;
- rete laboratoristica;
- coordinamento ed elaborazione strategica di lungo periodo;
- programmazione periodica delle attività.

È da sottolineare che già oggi, il Servizio fitosanitario nazionale, le Università e gli Enti di ricerca, i Laboratori, gli Enti Locali, nonché i Settori produttivi e le Associazioni di settore, ognuno con le proprie competenze, possono svolgere un importante ruolo nella difesa delle piante, delle produzioni e dell'ambiente.

È evidente che l'aumentata complessità del sistema, inoltre, necessita di un elevato grado di coordinamento delle strutture coinvolte e di un sistema dotato di procedure chiare e definite.

In particolare, dotarsi di una buona pianificazione strategica di lungo periodo, nonché di un piano periodico delle attività, permette la migliore allocazione delle risorse a disposizione e la programmazione degli interventi nei vari ambiti del settore. Le risorse a disposizione sono, come sottolineato, sempre più scarse mentre è sempre più difficile prevenire l'introduzione di organismi nocivi.

Una costante pianificazione strategica consentirebbe, pertanto, non solo l'individuazione delle priorità in termini di rischi fitosanitari e di analisi costi-benefici, ma anche l'identificazione di strumenti innovativi e l'adozione di sistemi di misure integrate di gestione del rischio che, sviluppando le possibili sinergie e una diversa organizzazione dei controlli, potrebbero aiutare a sopperire alla cronica carenza di risorse ottenendo risultati positivi.

#### RIASSUNTO

Il 09 ottobre 2013, viene segnalato dal Servizio Fitosanitario della Regione Puglia il ritrovamento dell'organismo nocivo *Xylella fastidiosa* come uno dei patogeni responsabili dei diffusi disseccamenti a carico di piante di olivo in un ampio comprensorio della Provincia di Lecce ascrivibili al Complesso del Disseccamento Rapido dell'Olio (CODiRO). In considerazione dell'elevato rischio fitosanitario il batterio è inserito nella lista dei pato-

geni da quarantena dell'Unione europea e nella lista A1 dell'EPPO (*European and Mediterranean Plant Protection Organization*) come organismo nocivo la cui presenza è sconosciuta nell'Unione e la cui introduzione e diffusione in tutti gli Stati membri è proibita.

Vengono di seguito illustrate le azioni di contrasto previste dalla normativa nazionale e dall'Unione europea in materia fitosanitaria e messe in atto dal Servizio Fitosanitario Centrale del Mipaaf e dai Servizi Regionali, al fine di circoscrivere la problematica e scongiurare l'ulteriore diffusione dell'organismo nocivo nel territorio italiano ed europeo.

Il caso *Xylella fastidiosa* in Puglia ha posto in evidenza le criticità del sistema nazionale di protezione delle piante inerenti, in particolare l'idonea dotazione e allocazione delle risorse, l'adeguata sorveglianza del territorio, gli efficaci controlli all'importazione ecc., che sottolineano come sia imprescindibile un piano nazionale preventivo per la gestione delle emergenze presenti sul territorio nazionale.

#### ABSTRACT

In October 2013 the Apulian plant protection organization reported the first finding of *Xylella fastidiosa*. The bacterium was detected in olive trees affected by a disease denoted "Complesso del Disseccamento Rapido dell'Olio" (CoDiRO). In the European Union the bacterium *Xylella fastidiosa* is regulated as a quarantine pest inserted in the A1 list of EPPO, whose introduction into, and spread within, the Union are banned. In the elaborate are explained all the specific measures applied to ensure the eradication of the bacterium where it has been found to be present and inhibit the spread in the territory of the Union.

The phytosanitary emergency related to *Xylella fastidiosa* put in evidence several crucial matters of National Plant Protection Organization, as resources management, surveillance of territory, control at the point of entry, and underlines that a Phytosanitary strategy must be developed to prevent the entry and spread of other harmful organisms.

Finito di stampare in Firenze  
presso la tipografia editrice Polistampa  
nell'aprile 2015

