

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 psyllaurus*) (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 γ -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 γ -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 γ -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*, "21st 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 γ -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.