



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI BARI
ALDO MORO



Consiglio Nazionale
delle Ricerche
Bari

LA XYLELLA A CINQUE ANNI DALLA SUA INDIVIDUAZIONE

Giovanni P. Martelli
per conto di

D. Boscia, C. Cariddi, A. de Stradis, A. Giampetruzzi, P. La Notte, G. Lo Console,
M. Morelli, A. Minafra, F. Nigro, F. Porcelli, P. Saldarelli, M. Saponari, V. Savino

Dipartimento di Scienze del Suolo della Pianta e degli Alimenti,

Università degli Studi Aldo Moro, Bari

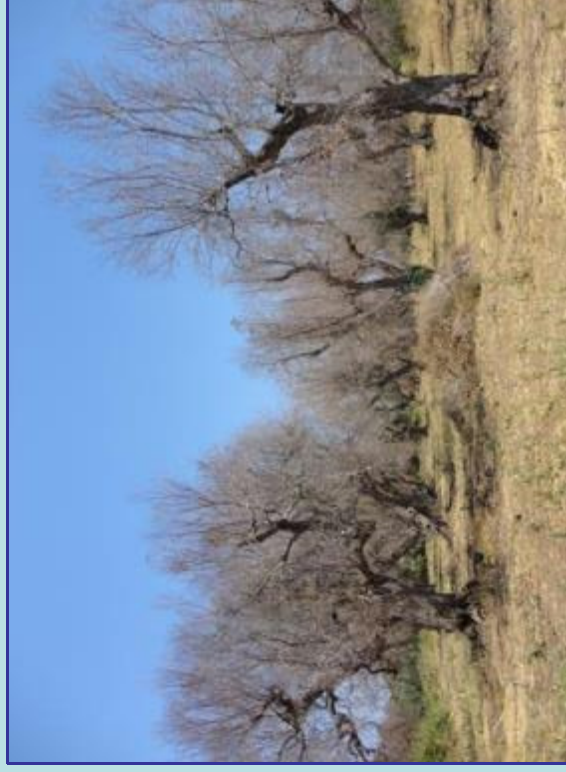
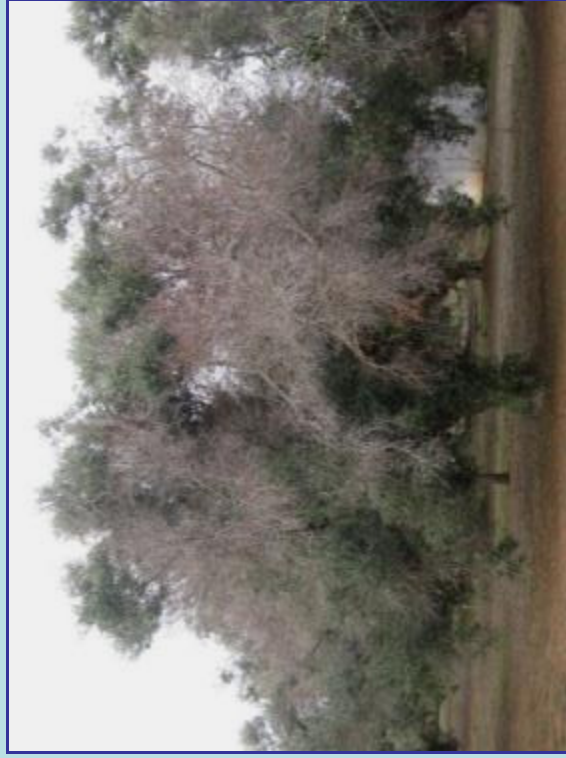
Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante, CNR, Bari

Chianciano Terme, 9 Marzo 2018

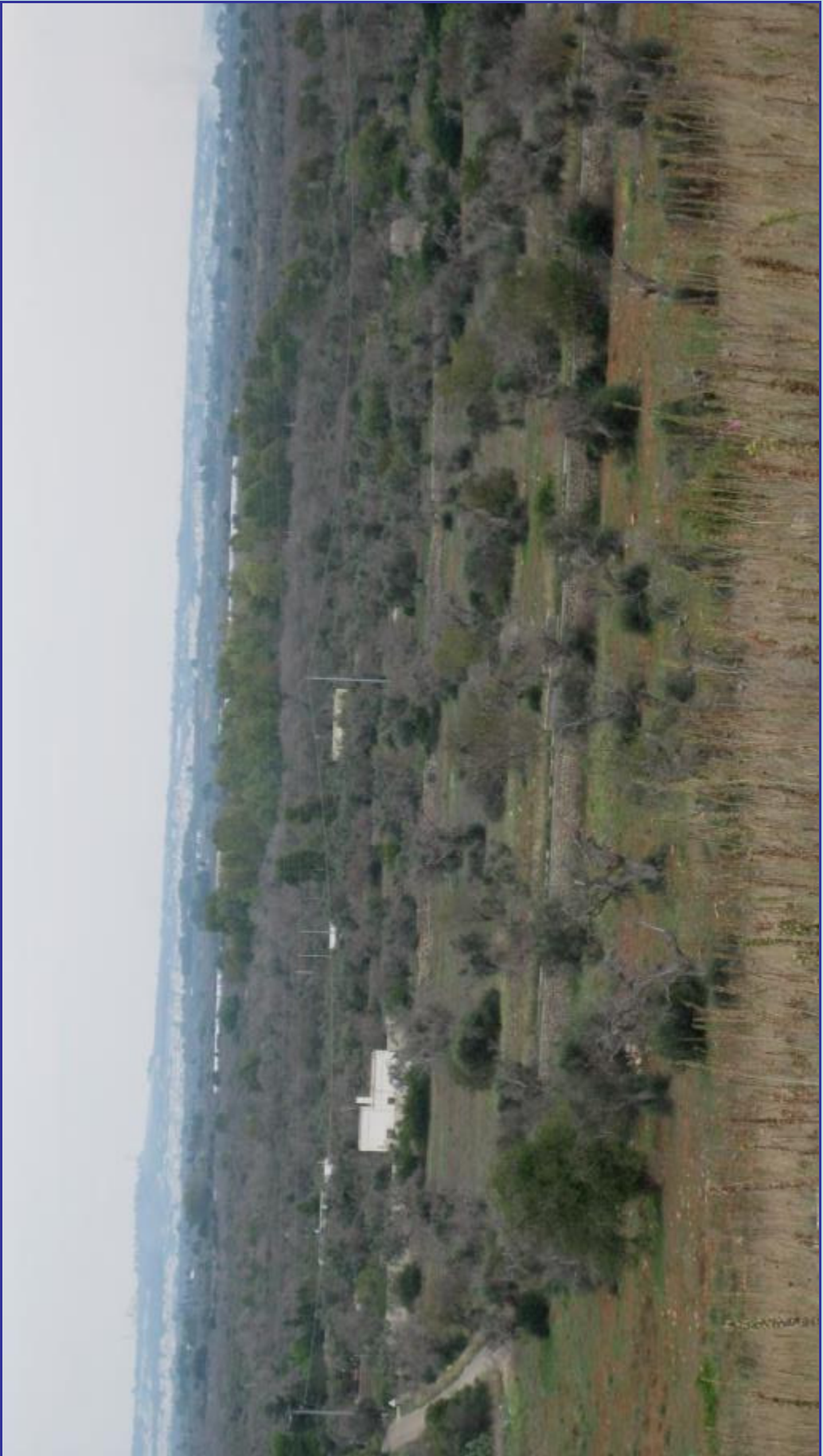
Tarda estate 2013: Segnalazione
del "Disseccamento rapido
dell'olivo" (Olive quick decline
syndrome = OQDS), malattia
che sta falciando
alcuni impianti del gallipolino
dove si ritiene che sia comparsa
tra il 2008 e il 2010



Stadi progressivi della malattia







La malattia colpisce ed uccide piante giovani (15-20 anni)



Piante centenarie



Piante millenarie



"Gigante di Alliste" uno dei "patriarchi" salentini
(età stimata 1500 anni)

Le cifre del disastro
(stime Coldiretti, estate 2017)

Olivi colpiti: 10 milioni

Superficie infetta: 5,000 Km²

Frantoi chiusi: 20%

Danni economici: 1 miliardo di Euro

Ottobre 2013: inizio dello studio della malattia da parte
di ricercatori dell'Università di Bari e del Consiglio Nazionale
delle Ricerche di stanza a Bari.

Indizi che portarono a far sospettare il coinvolgimento di *Xylella fastidiosa* nell'OQDS

Forte rassomiglianza dei sintomi su olivo con quelli indotti da *X. fastidiosa* su ospiti legnosi negli USA

Modalità di diffusione in campo compatibile con quella descritta negli USA per la *X. fastidiosa*



Olivo Salento



Quercus rubra
USA



Mandorlo
USA



Salento



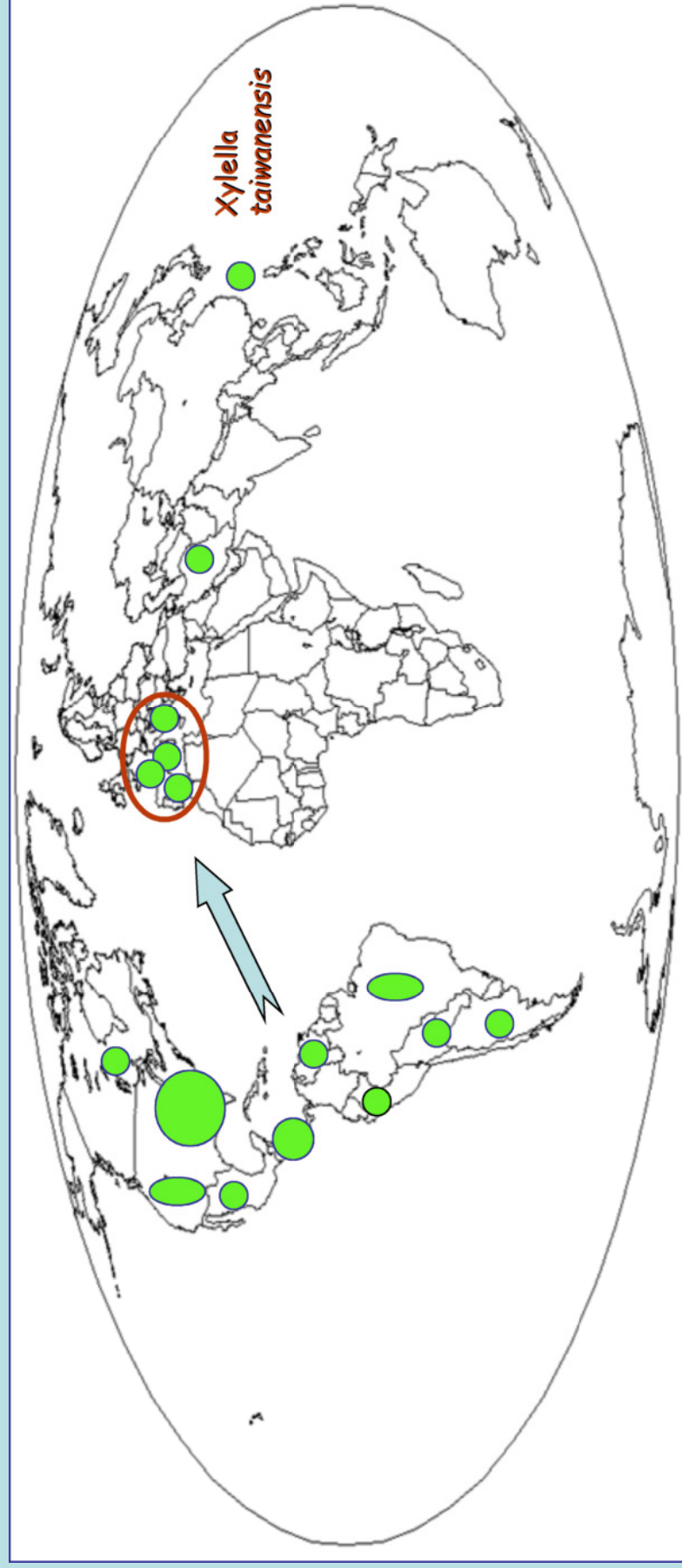
USA



USA

Bruscature fogliari

Distribuzione geografica di *X. fastidiosa* e *X. taiwanensis*

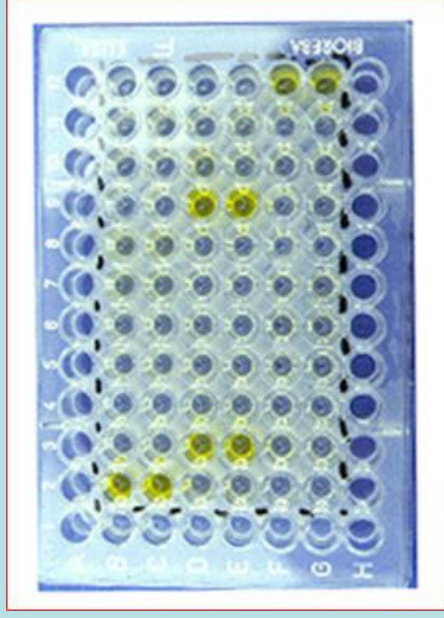


Canada (4 Stati)	America centrale	Argentina	Italia	Francia	Spagna
USA (30 Stati)	Brasile	Paraguay	Iran	(Germania)	
Messico	Equador	Venezuela	Taiwan	(Svizzera)	

COSA E' STATO FATTO

Messa a punto di affidabili saggi diagnostici

ANALISI SIEROLOGICHE

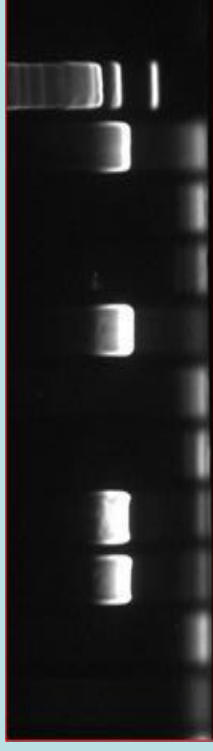


ELISA



Saggio immunologico su
membrana

ANALISI MOLECOLARI



Polymerase chain reaction



Loop-mediated isothermal amplification

Microscopia elettronica di olivi infetti

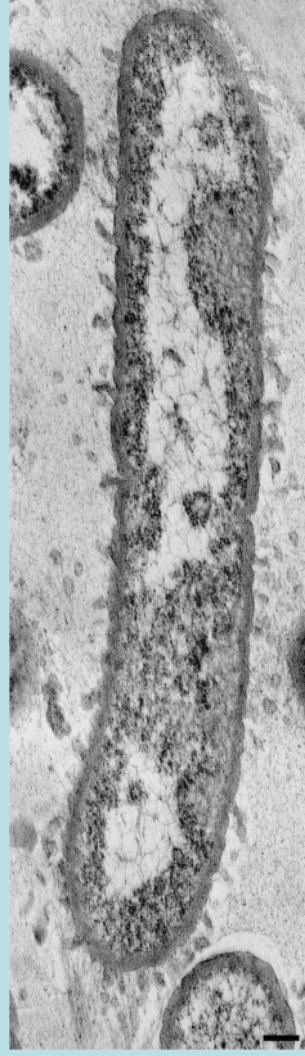
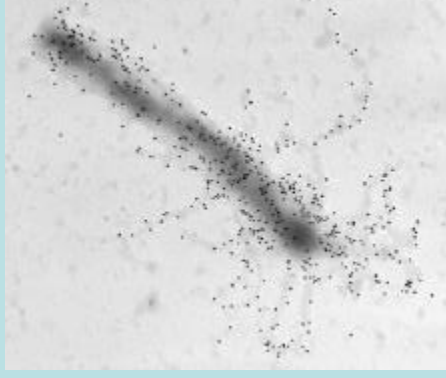
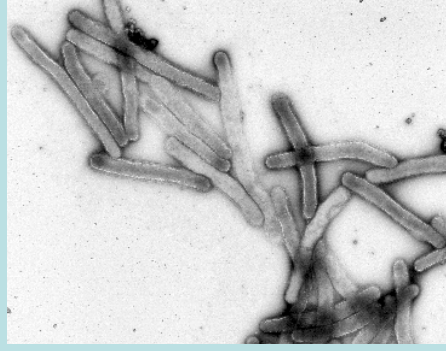
Cellule batteriche all'interno di un
vaso legnoso di olivo



Una cellula batterica con
la parete rugosa tipica
di *X. fastidiosa*



Isolamento in coltura pura del ceppo salentino (CoDiRO) di
Xylella fastidiosa



da olivo, pervica, oleandro
mandorlo ciliegio *Polygala myrtifolia*, *Westringia fruticosa*, ed altri ospiti

La famiglia *Xylella*

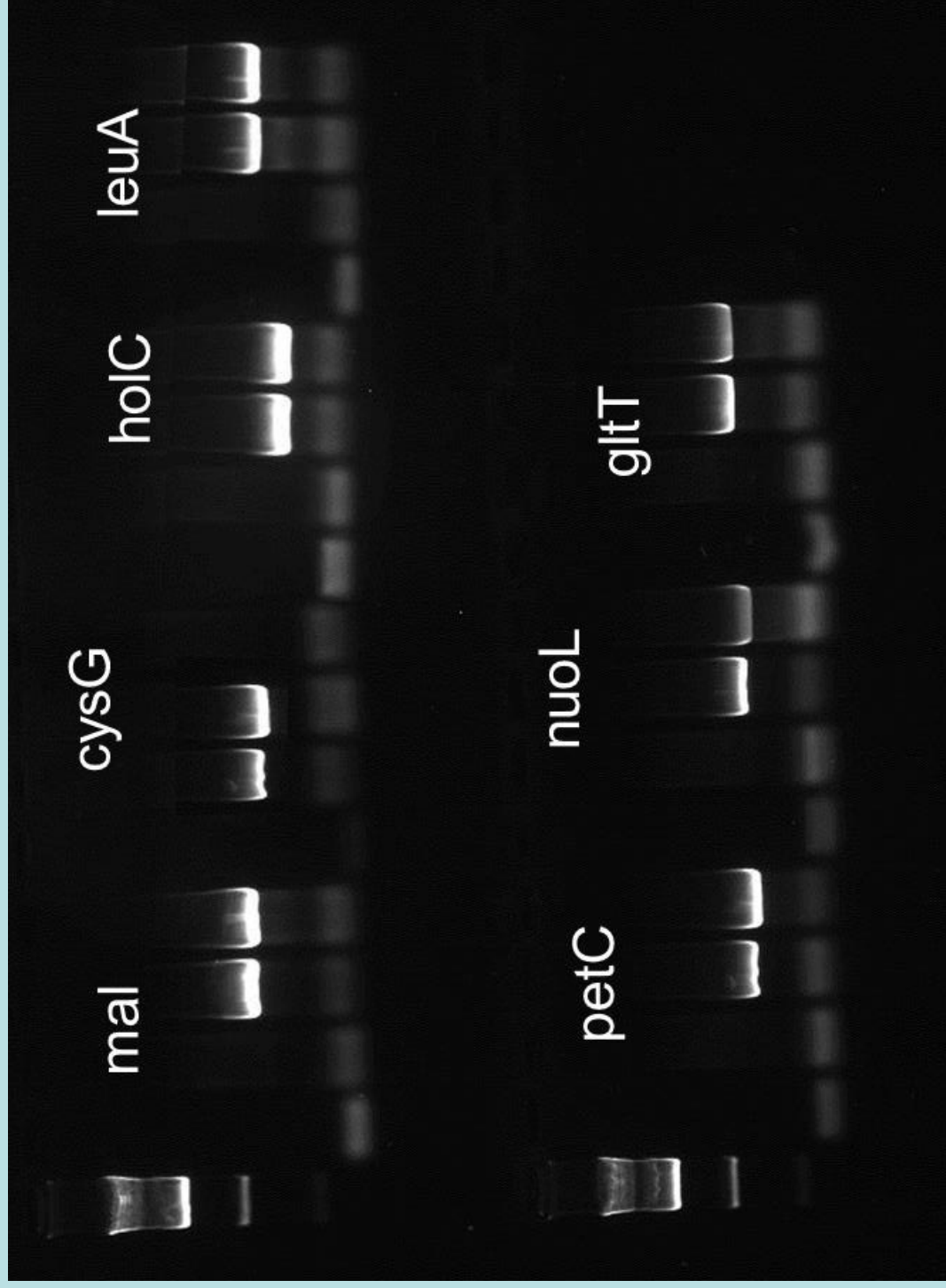
Annovera due specie: *Xylella fastidiosa* e *Xylella taiwanensis*

X. fastidiosa possiede 5 differenti sottospecie che hanno differente distribuzione geografica e gamma d'ospiti

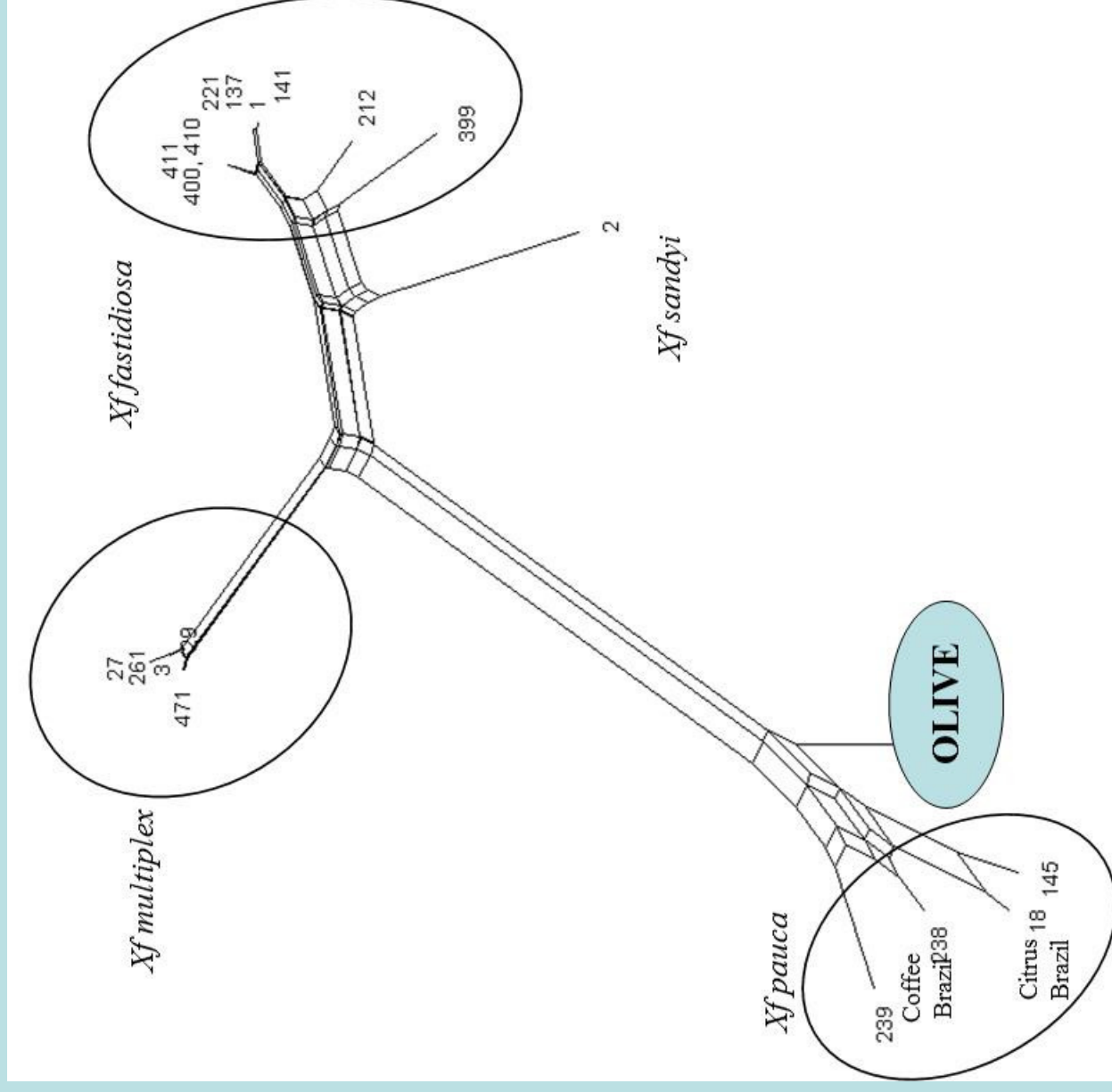
- X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa*
- X. fastidiosa* subsp. *multiplex*
- X. fastidiosa* subsp. *pauca*
- X. fastidiosa* subsp. *sandyi*
- X. fastidiosa* subsp. *morus*

Era pertanto importante identificare la sottospecie che infetta gli olivi salentini

Ciò è stato fatto con l'analisi molecolare di 7 specifici geni



Il ceppo salentino
di *Xylella* (CoDiRO)
è una variante (ST53)
della sottospecie
"pauca"



Genoma del ceppo CoDiRO

By softwares:

**PROKKA and
myRAST**

Chromosomal replication initiator protein DnaA

Contig: 160492.1/NC_002488

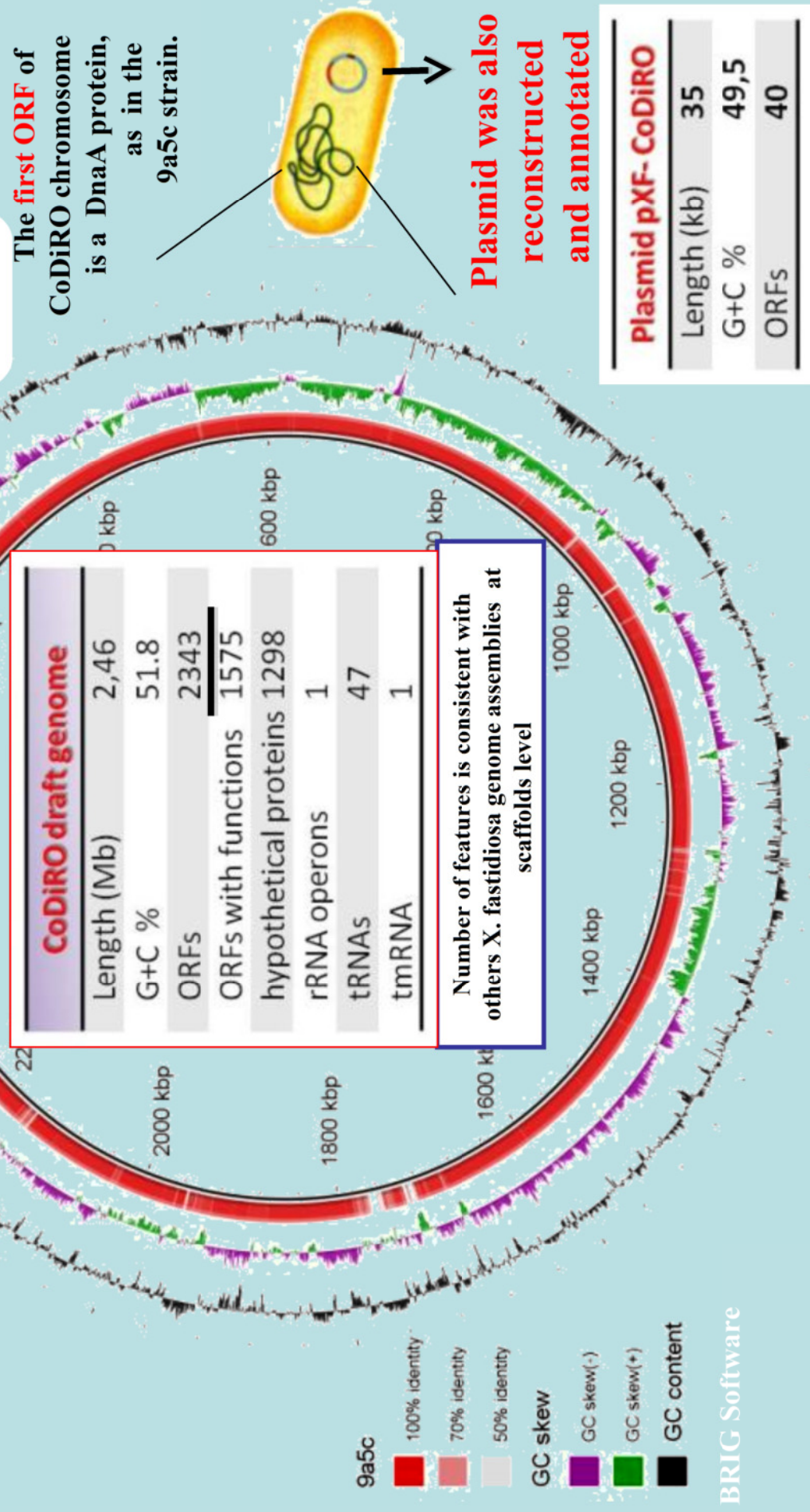
Start: 143

Stop: 1462

Length: 1319 bp 439 aa

CoDiRO

Xylella fastidiosa 9a5c



BRIG Software

**Dimostrazione della patogenicità del ceppo CoDiRO
con infezioni artificiali usando colonie pure del batterio**

Olivio



Sintomi iniziali



Sintomi conclamati

Oleandro



Infezione artificiale
(sintomi iniziali)



Infezione naturale



Infezione naturale

Polygala myrtifolia



Infezione artificiale

Ricerca di altre specie di piante ospiti naturali di *Xylella* nel Salento

Una trentina circa di piante arboree ed arbustive

Oleandro



Mandorlo



Ciliegio

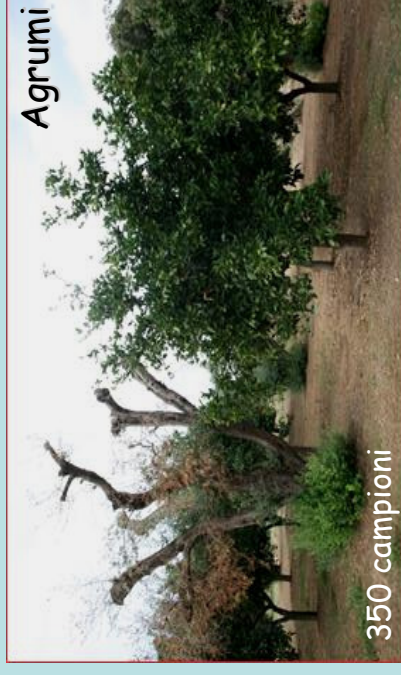


Westringia fruticosa



Polygala myrtifolia

Ma non vite ed agrumi



Immunità dimostrata anche con prove di infezione artificiale

Al contrario di altri batteri fitopatogeni che infettano gli ospiti attraverso ferite, *X. fastidiosa* è trasmessa da pianta a pianta da cicaline, insetti che si nutrono sui vasi legnosi, acquisendo il batterio che poi trasferiscono ad altre piante. Una volta acquisito, il batterio si moltiplica nell'insetto e vi persiste

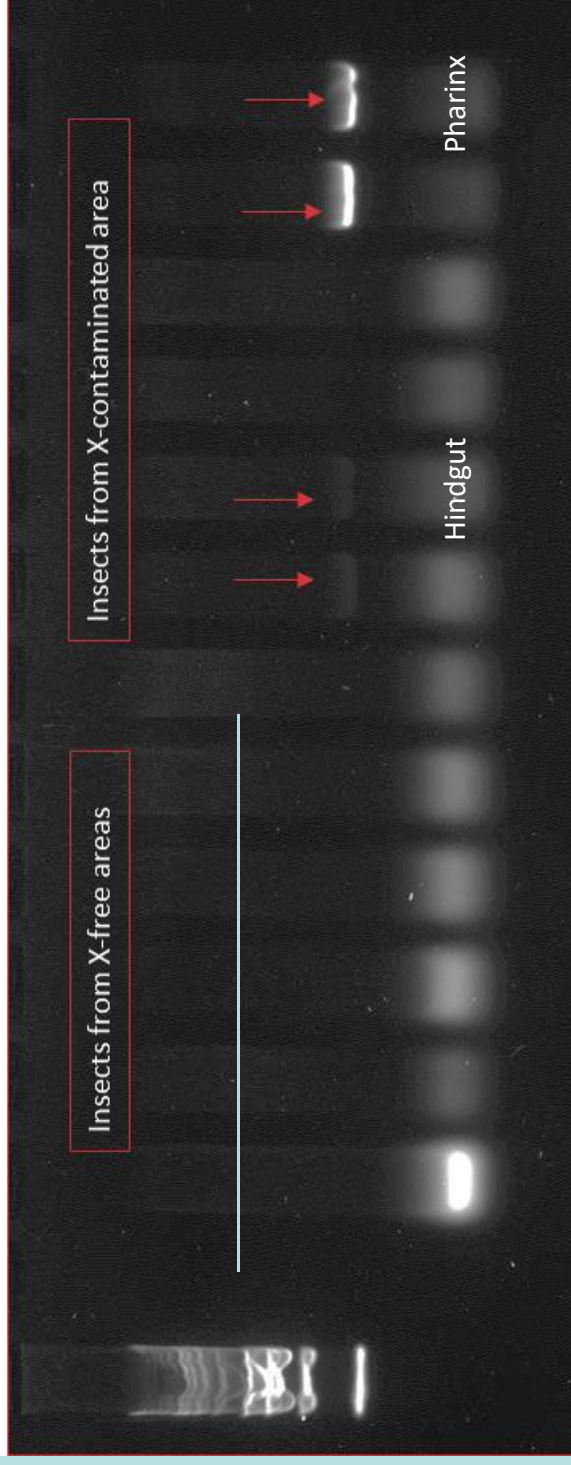
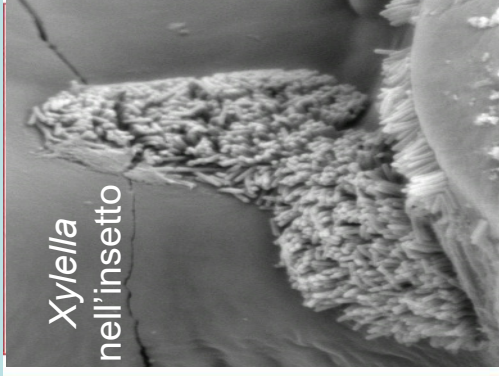
E'così anche nel Salento?

RICERCA DEL VETTORE

Tra le varie specie di cicaline note come vettrici di Xylella, l'attenzione si è rivolta a *Philaenus spumarius* (sputacchina media) insetto largamente diffuso nel Salento e presente in gran numero sugli olivi

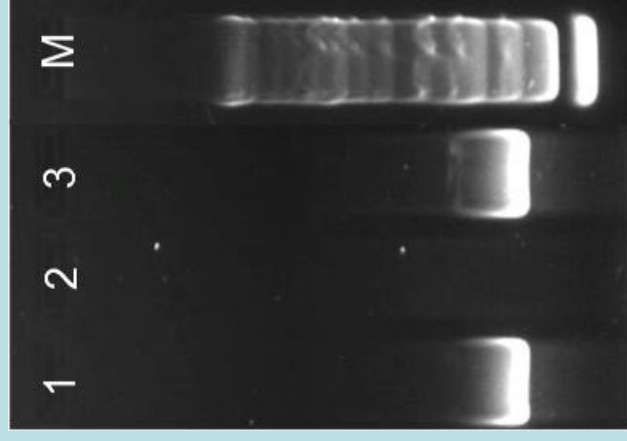


Xylella è stata identificata in molti adulti di *Philaenus spumarius* (sputacchina media) catturati in oliveti infetti ma in nessuno di quelli liberi dal batterio



Prove di trasmissione

Adulti infettivi di *P. spumarius* messi a contatto con pervinche e piante di olivo hanno trasmesso il batterio



1, Pervinca. 2, Testimone non Inoculato. 3, Olivo

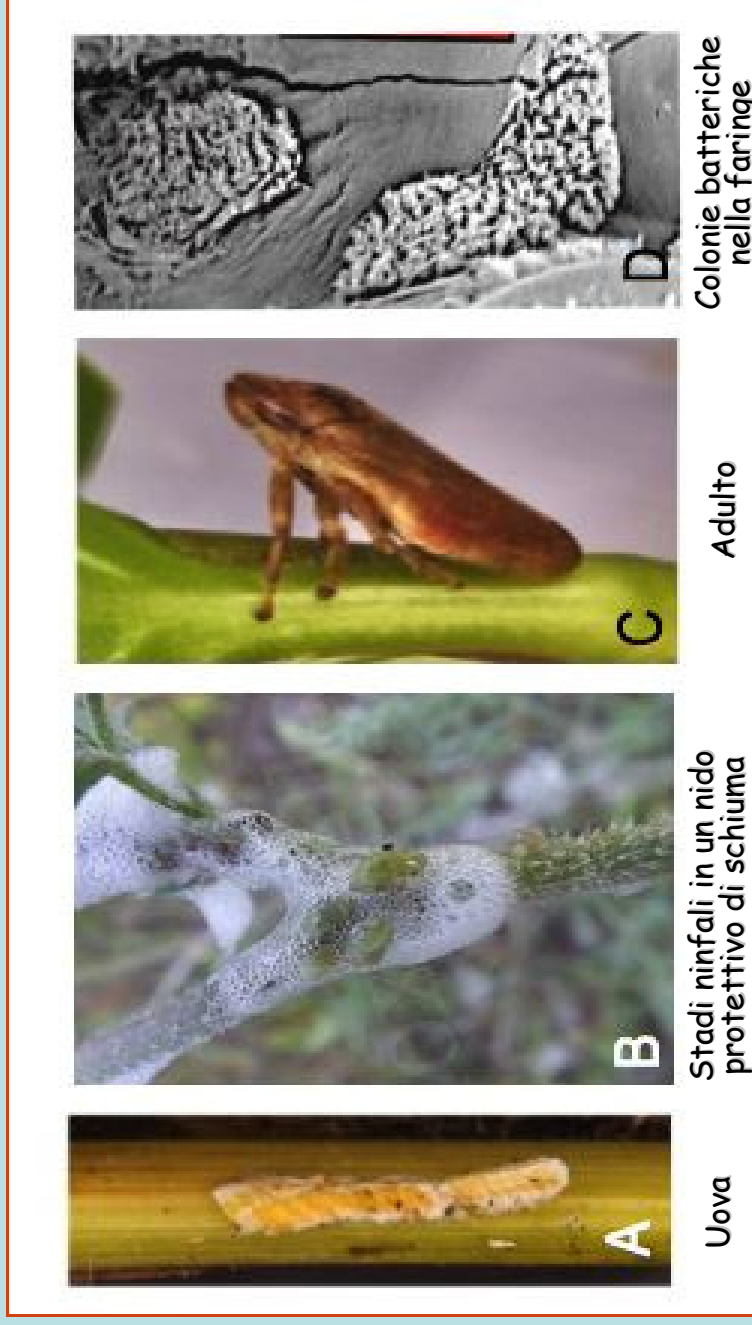
Sintomi su olivi ingabbiati
(esperimenti in campo)



Sintomi su semenzali di olivo
esposti a cicaline infettive
(esperimenti in serra)

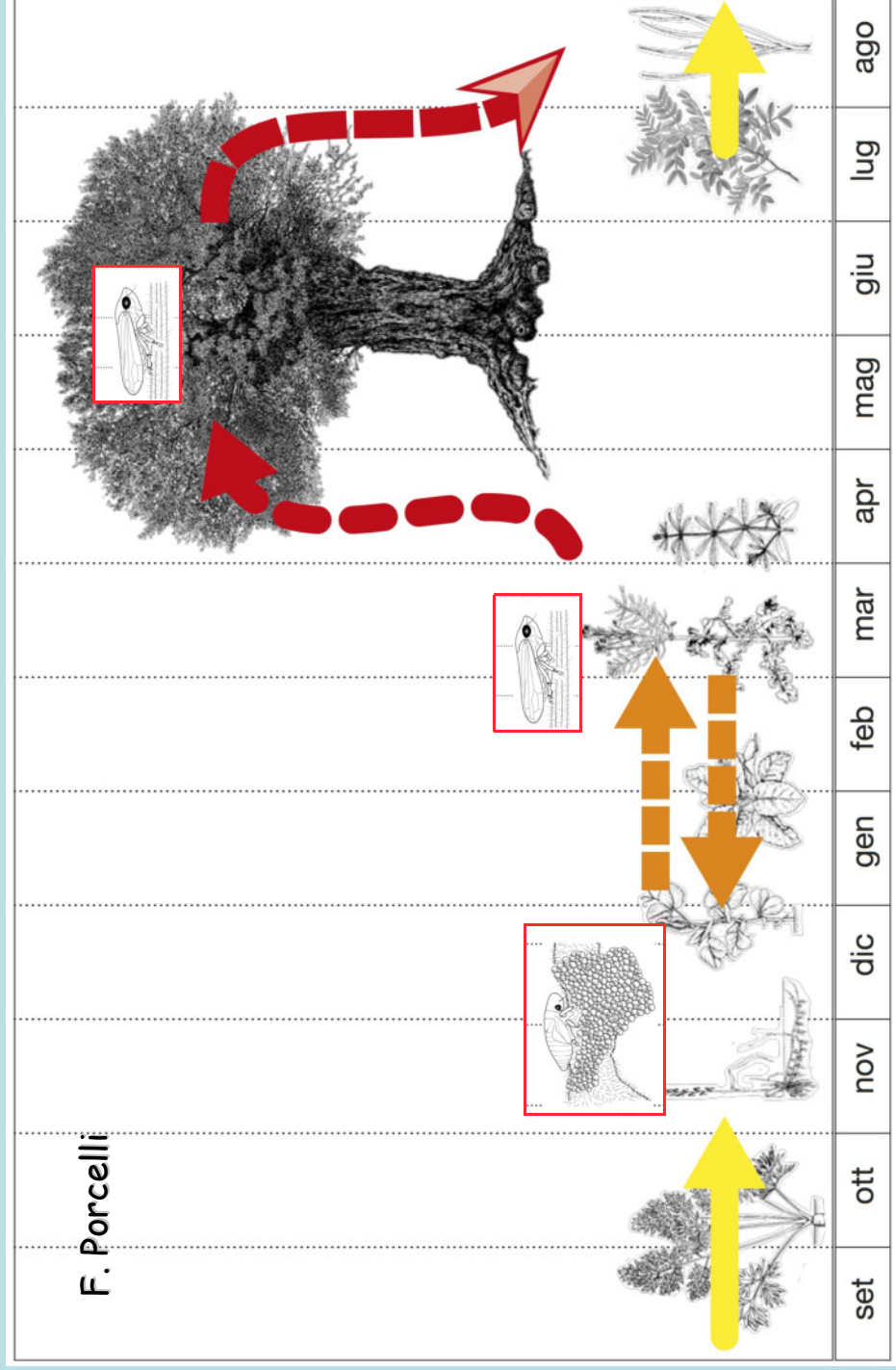


Conclusione



La sputacchina *Philaenus spumarius* è il principale vettore del ceppo CoDiRO. Centinaia di adulti possono trovarsi su di un singolo olivo. Un' alta percentuale di essi (fino al 70-80%) ospita il batterio

Ciclo biologico di *P. spumarius*



L'olivo è ospite preferito della cicalina e fonte di inoculo per la trasmissione della Xilella da pianta a pianta

Individuati altri due vettori

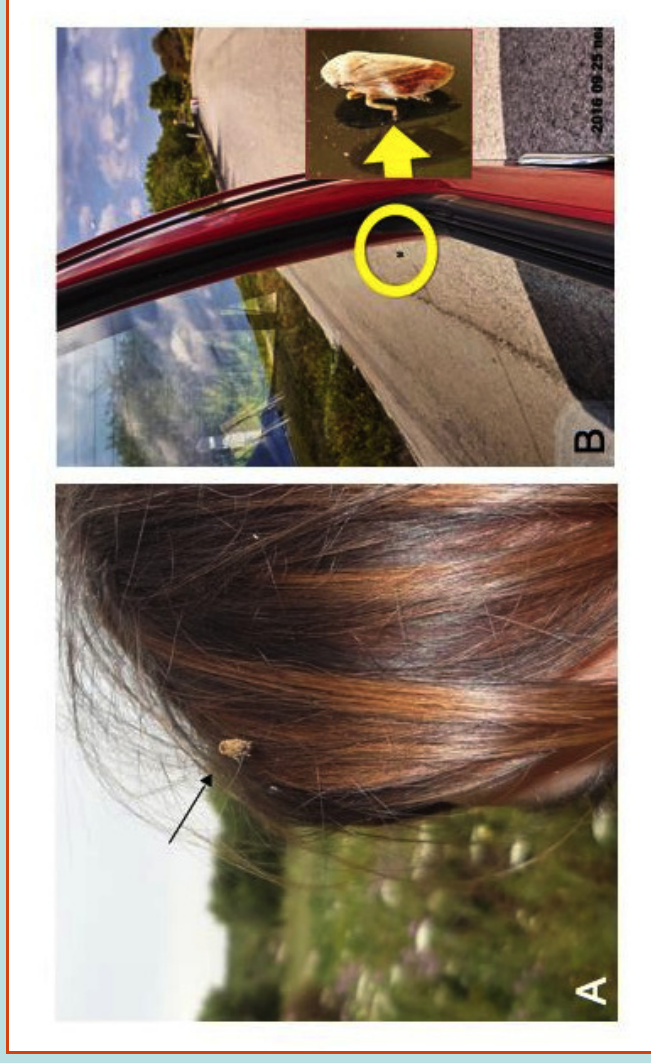
*Neophilaenus
campestris*



*Philaenus
italosignus*



La sputacchina compie brevi voli (circa 100-120 metri) muovendosi all'interno e tra gli impianti olivicoli ma può compiere percorsi assai più lunghi se trasportata da persone e mezzi di locomozione (trasporto passivo)



Ciò permette alla Xylella di compiere balzi
di molte decine di chilometri.
E' la modalità di diffusione più insidiosa
e difficile da prevenire

Informazione e prevenzione

Ma in Puglia?

Niente segnaletica

L'Europa pretende l'utilizzo di segnaletica per indicare la presenza del batterio

La Regione, "per non danneggiare il turismo", ha detto che avrebbe optato per altre forme di comunicazione che non ha mai messo in opera.



PARERE AI VIAGGIATORI CHE TRASPORTANO DEI VEGETALI



Un batterio, *Xylella fastidiosa*, presente in Italia attualmente, provoca una malattia mortale sull'olivo, l'oleandro, i prunus, la vite, gli agrumi...
Trasmessa dagli insetti, può affettare anche di numerose piante ornamentali.

L'ATTENZIONE DEI VIAGGIATORI E CHIAMATA SU L'INTERDIZIONE DI L'INTRODUZIONE DI 200 SPECIE DI VEGETALI IN CORSICA

Dei controlli rinforzati sono programmati allo sbarco per verificare l'applicazione delle misure di interdizione.

IN CASO DI INFRAZIONE, I VEGETALI SERANNO AFFERRATI E DISTRUTTI

TUTTO CONTRAVVENTORE SI ESPORRÀ A DUE ANNI DI IMPRIGIONAMENTO E DI 300 000 € DI MULTA

L'elenco dei vegetali riguardati, così come delle notizie complementari, sono disponibili sul sito dello Stato in Corsica.



www.corsica.gouv.fr

0 N° Vert 0 600 873 699

COSA C'E' DA FARE

Xylella fastidiosa è un microrganismo da quarantena inserito nella lista A1 della European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO), che comprende i patogeni più pericolosi

Scheda informativa della Commissione Europea 17 Luglio 2015

Quale organismo da quarantena, la Xylella è disciplinata nella UE dalla Direttiva 2000/29/CE che concerne le misure di protezione contro l'introduzione nella Comunità di organismi nocivi alle piante e la loro diffusione

(La Direttiva, recepita dall'Italia, è un atto che ha forza di legge)

La Direttiva, accertata la presenza di un tale organismo ed **indipendentemente dai sintomi**, obbliga gli stati membri di adottare tutte le misure per la sua eradicazione o, qualora ciò fosse impossibile (**caso del Salento**)

impedirne l'ulteriore diffusione

Come fronteggiare il disseccamento rapido dell'olivo?

Una volta penetrata in un ambiente climaticamente favorevole la *Xylella* vi si installa permanentemente.

Non esistono ancora metodi per salvare le piante infette uccidendo il batterio al loro interno

Le "buone pratiche agricole" sono utili, così come i trattamenti con induttori di resistenza, concimi fogliari, biostimolanti, fluidificanti del biofilm batterico ecc. che permettono forse la "convivenza" col patogeno ma non salvano le piante infette.

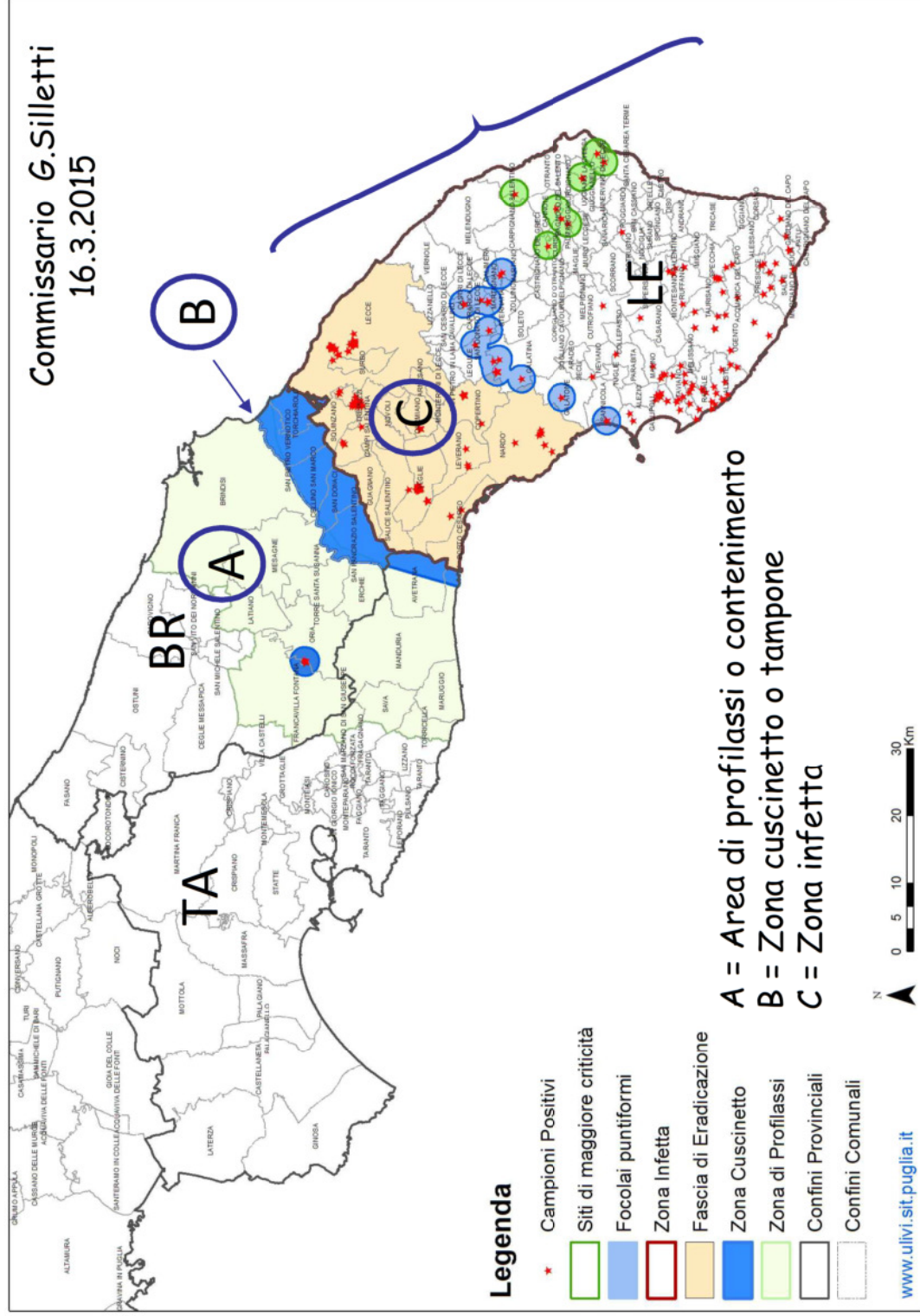
SORVEGLIANZA E CONTENIMENTO

Si può circoscrivere la malattia mediante una **tempesta** individuazione delle nuove infezioni (**sorveglianza**) seguita dalla sollecita eliminazione dell'inoculo (piante infette) e da una **efficiente lotta** ai vettori (**contenimento**)

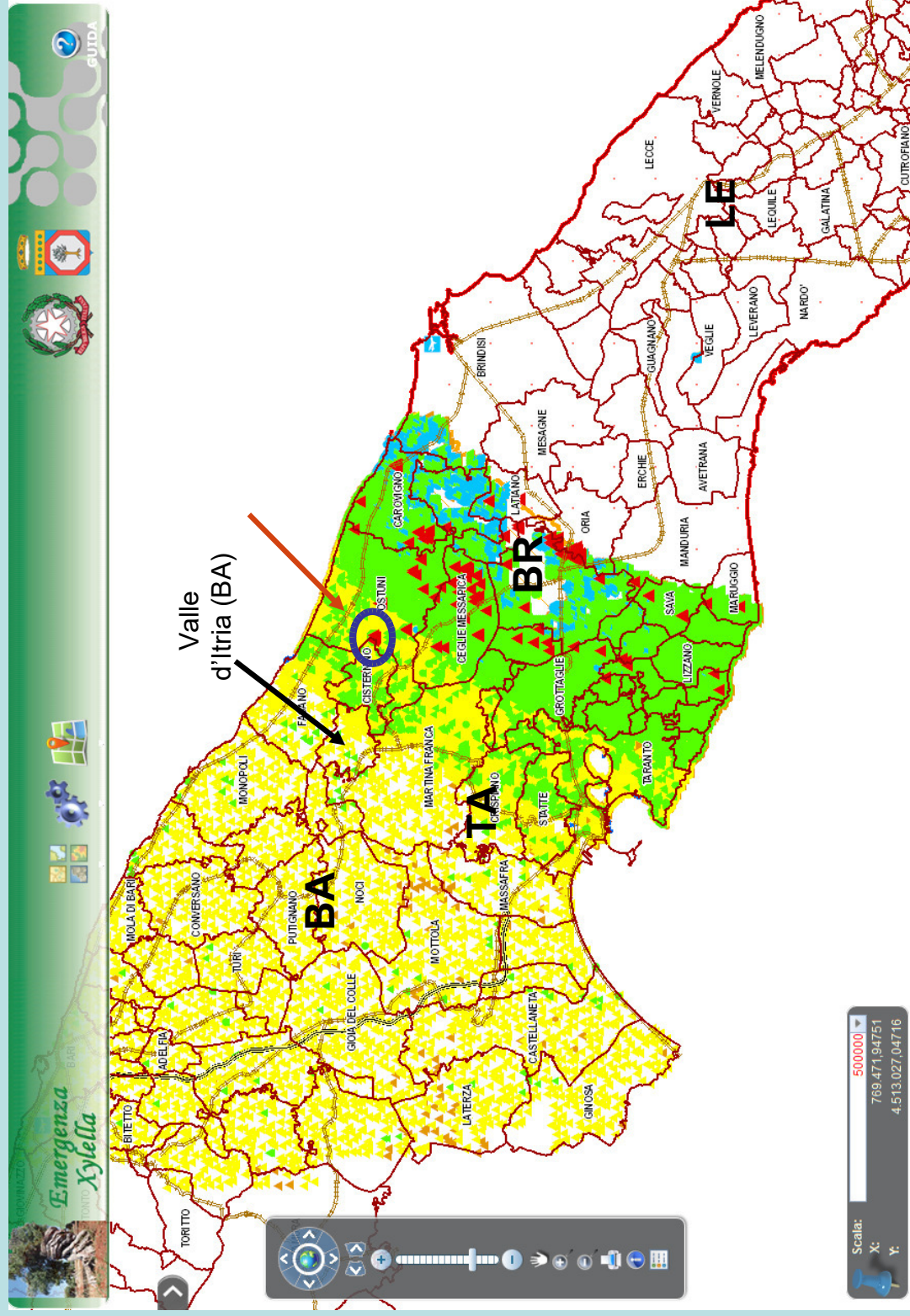
E' questa la strategia che il Servizio Fitosanitario Nazionale ha deciso di mettere in atto con il "Piano Silletti", varato nel 2015 tenendo conto delle risultanze delle ricerche effettuate fin dall'autunno del 2013

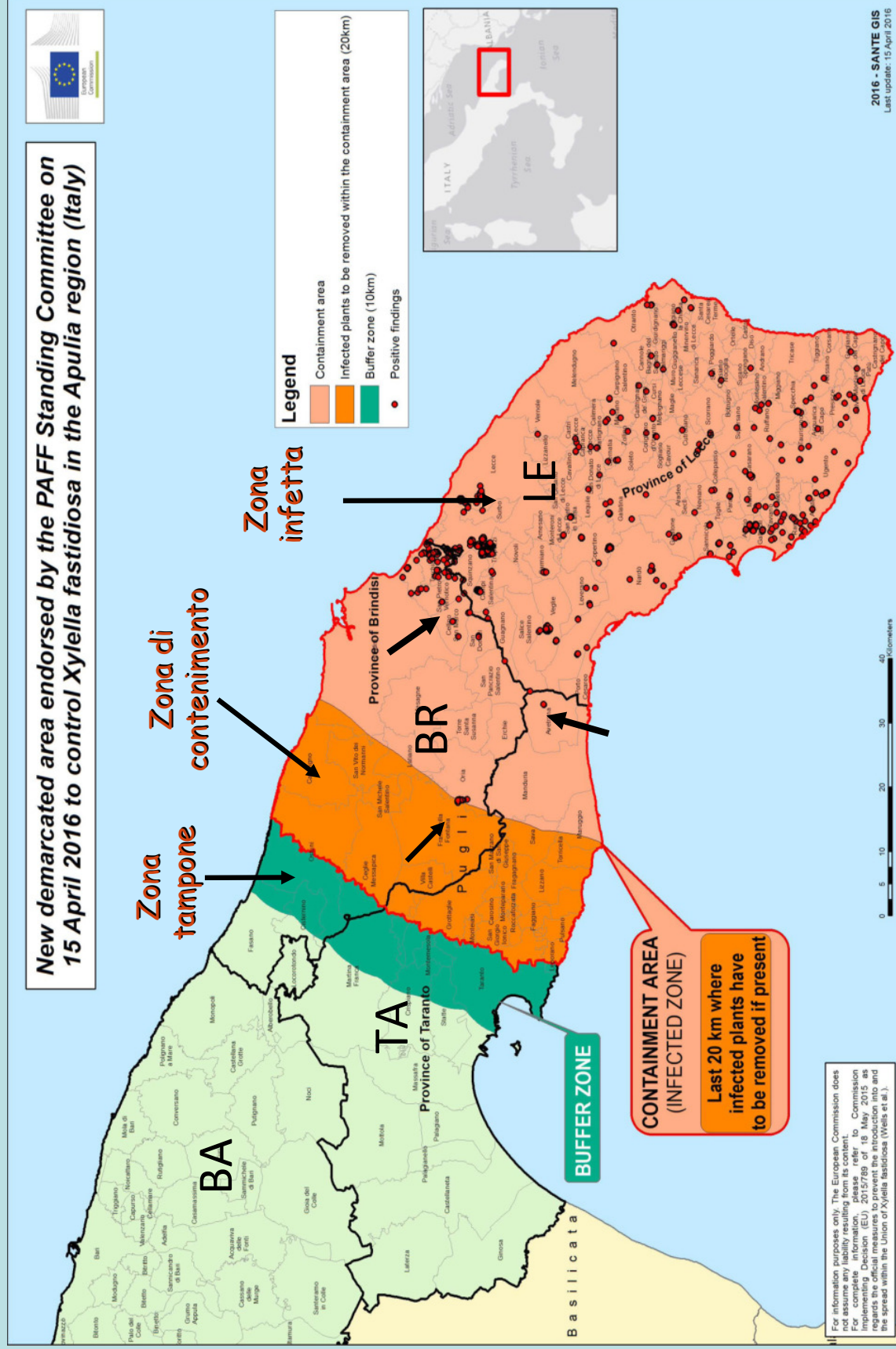
Piano di contenimento 2015

Commissario G.Silletti
16.3.2015



Alla fine del 2015 il piano è stato affossato dall'intervento della magistratura. Intanto la *Xylella* è penetrata nelle province di Brindisi e Taranto ed è alle porte della Valle D'Itria (Cisternino)





La zona infetta è stata estesa dalla UE alle province di Brindisi (BR) e Taranto (TA) ed include ora la ex zona di contenimento

Interventi nella zona zona tampone e di contenimento

1. VERIFICA DELL'ASSENZA DI INFEZIONI MEDIANTE:

Esteso e continuo **monitoraggio** dei vettori, olivi e ospiti alternativi per la presenza di *Xylella*.

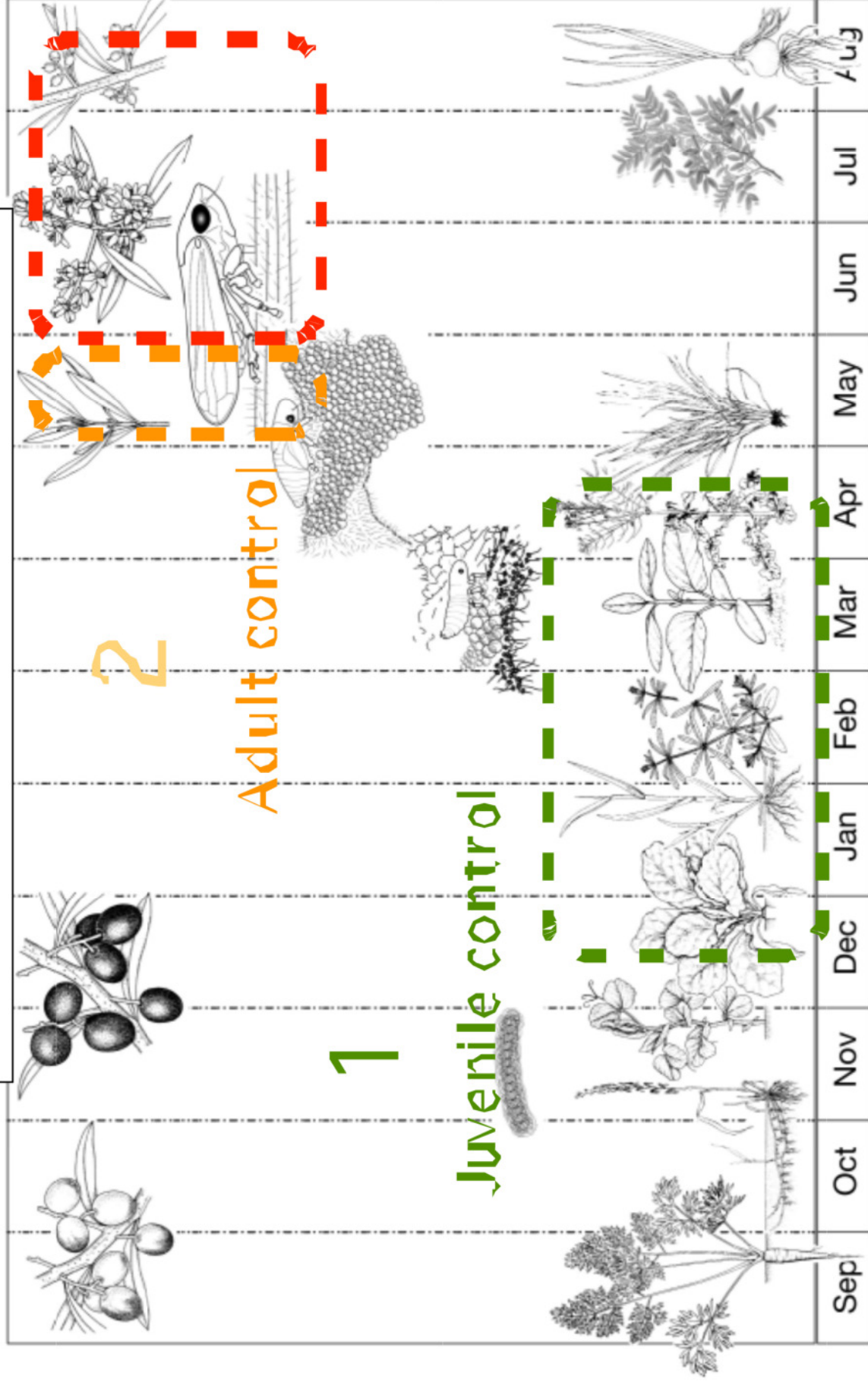
2. CONSERVAZIONE DELLO STATO DI SANITA' MEDIANTE

Lotta al vettore (diserbo meccanico e trattamenti insetticidi all'olivo)

Rimozione degli ospiti alternativi e gli olivi infetti e, nei **nuovi focolai** anche gli olivi sani nel raggio di 100 metri da quelli infetti

Rimozione degli ospiti alternativi da strade, canali, spazi verdi, ecc.

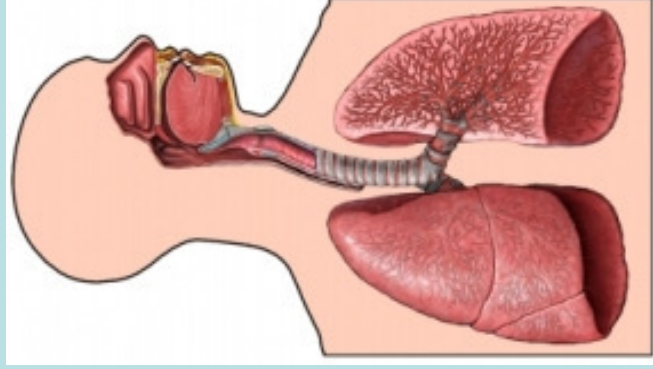
Fasi essenziali della lotta al vettore



**Interventi sulle piante infette per eliminare
o ridurre l'occlusione dei vasi legnosi**

N-Acetilcisteina (NAC)

NAC è un mucolitico usato in medicina umana



In prove in corso in Brasile il NAC allevia i sintomi dell'infezione da Xylella su agrumi



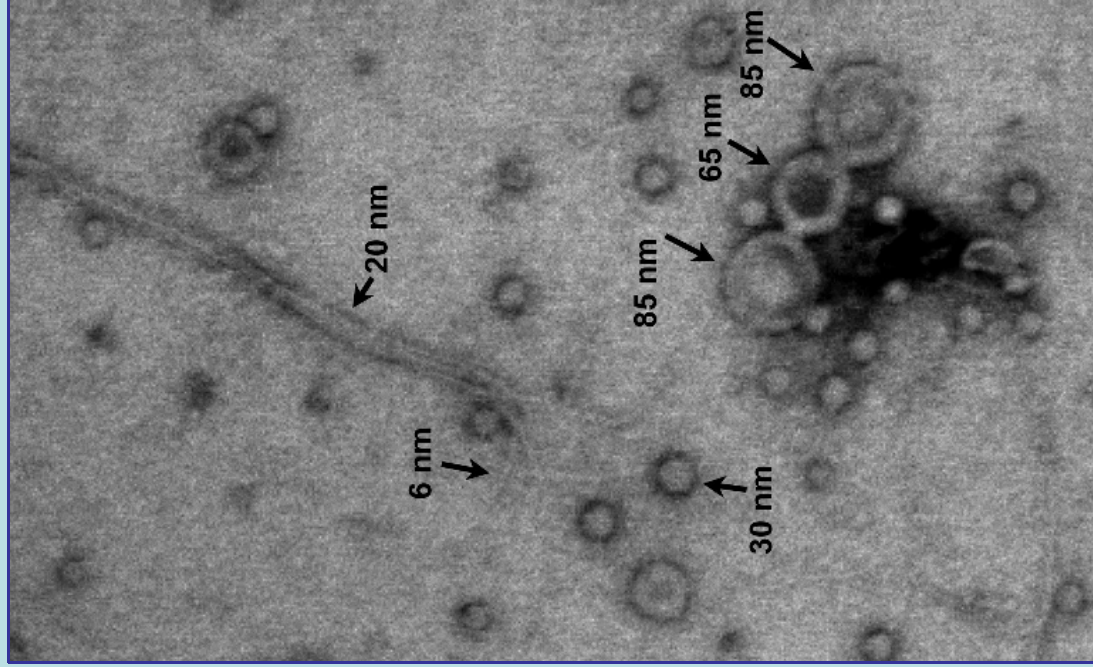
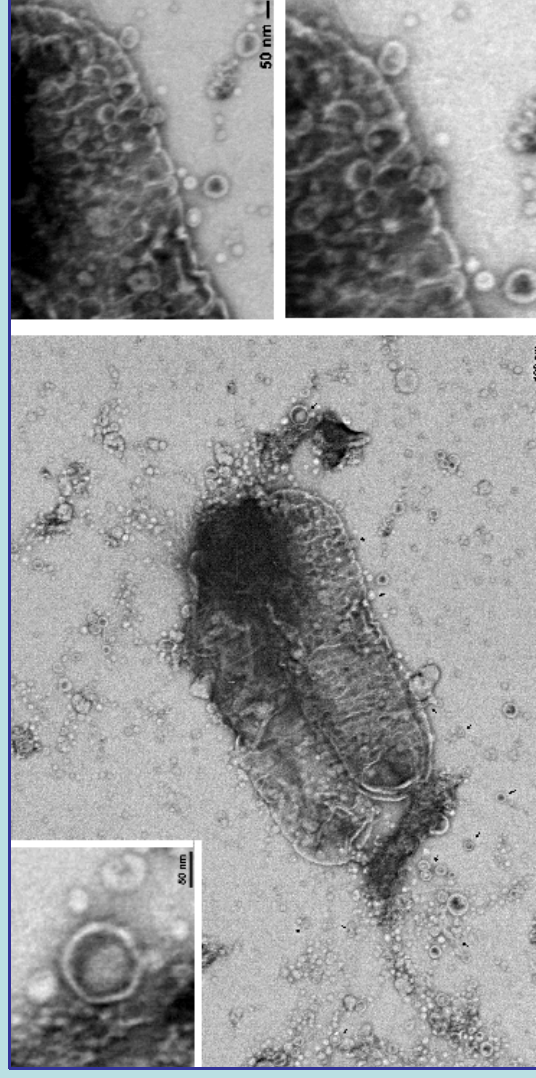
Fertilizzanti + NAC

Fertilizzanti - NAC

**Veicolare nei vasi legnosi
molecole tossiche per il patogeno, terapia fagica**

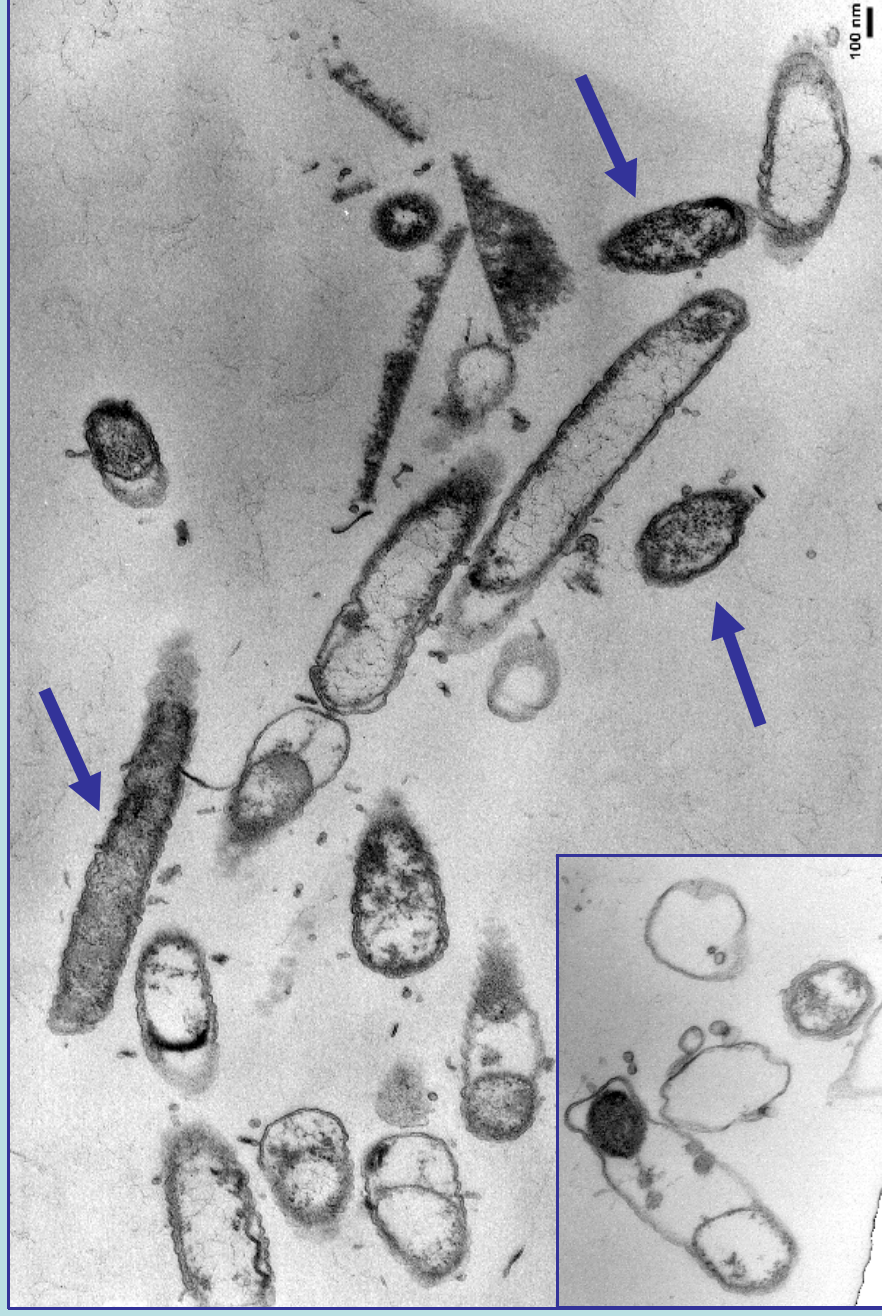
Tre specie di batteriofagi che
infettano *Xf pauca* CoDiRO

Effetti della infezione fagica



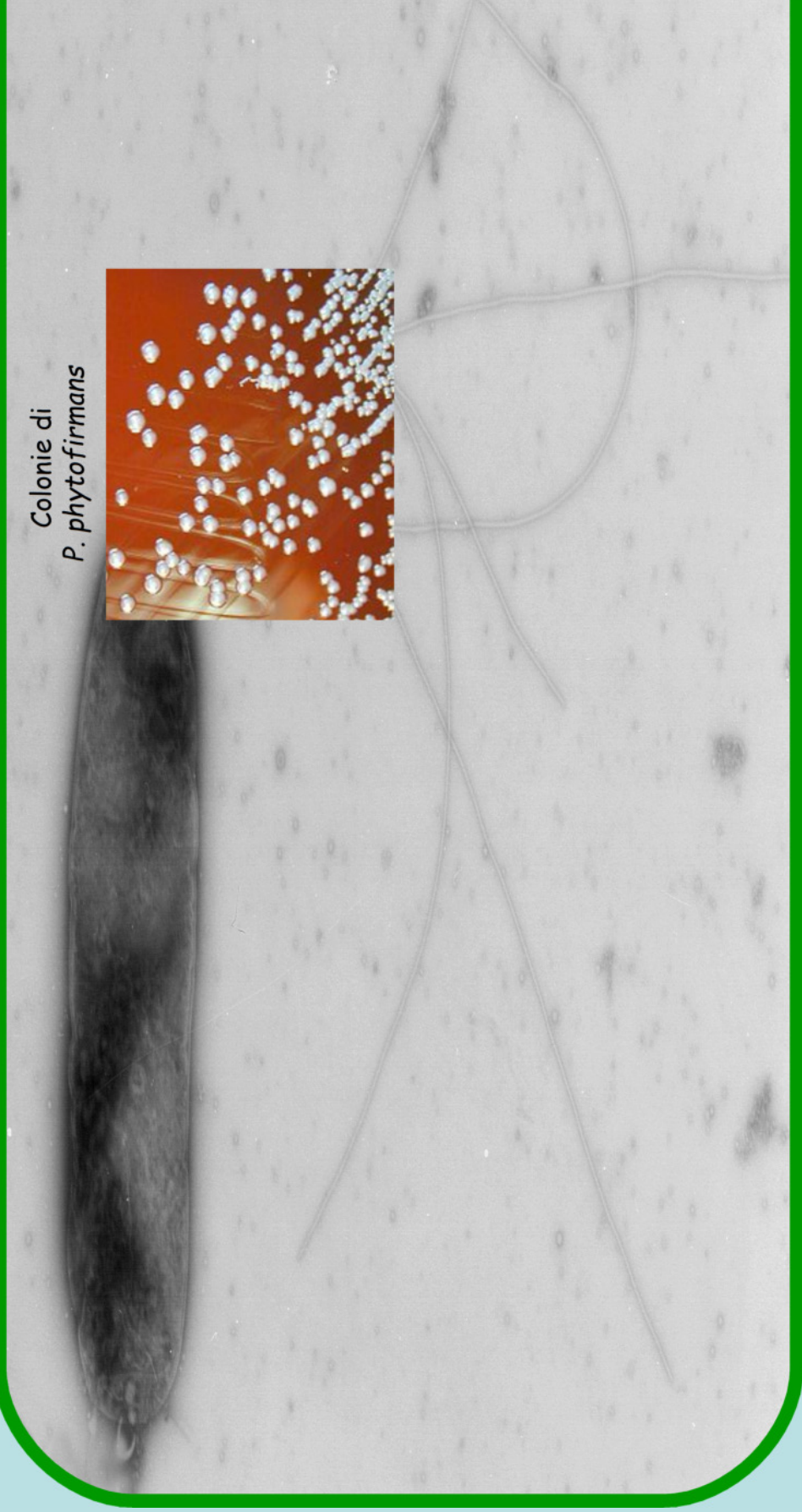
Effetti delle nanoparticelle su *Xf pauca* CoDiRO

(Le frecce indicano cellule batteriche indenni)



Paraburkholderia phytofirmans
un batterio endofitico che induce nella pianta ospite
meccanismi di difesa contro altri batteri

Colonie di
P. phytofirmans



Questi ed altri studi sono in corso nell'ambito di
due importanti progetti internazionali
finanziati dalla UE



Coordinatore: D. Boscia, Bari

15 gruppi di ricerca da: Italia (2), Francia (2), UK (2), Spagna (2),
e uno ciascuno da Austria, Finlandia, Norvegia, Olanda,
Serbia, Israele e Costa Rica.

.



Xylella fastidiosa active containment
through a multidisciplinary-oriented
research strategy

Coordinatore: M. Saponari, Bari

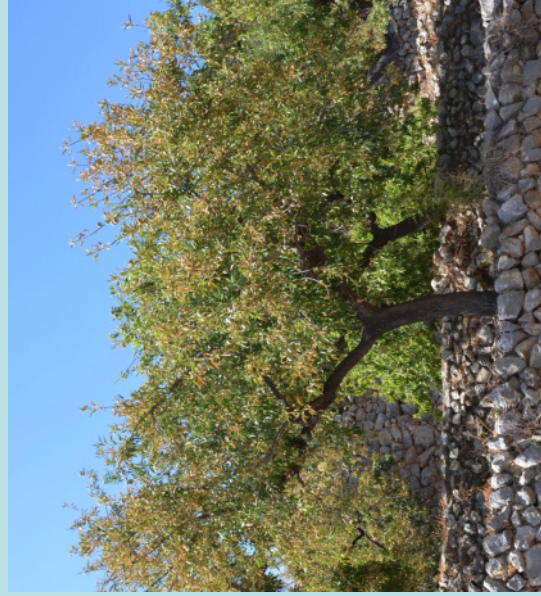
21 gruppi di ricerca da: Italia (4), Spagna(3), Belgio (3),
Francia (2), UK (2), Portogallo (2), e uno ciascuno da Grecia
Germania, Olanda, Costa Rica, Brasile, USA, Taiwan,
più altri partners per un totale di 29 partecipanti

Il finanziamento UE delle ricerche è una "corsa ai ripari" dovuta anche al timore che la diffusione della *Xylella* nel territorio comunitario diventi incontrollabile.

L'Italia, infatti, non è più la sola fonte di contagio

La *Xylella fastidiosa* in Europa

1998. *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* in un vigneto del Kosovo (segnalazione non confermata)
2012. *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa*, *sandyi* and *pauca* in Francia (intercettazioni in partite di piante importate)
2013. *X. fastidiosa* subsp. *pauca* nell'olivo in sud Italia (**epidemia in campo**)
2014. *X. fastidiosa* (sottospecie non identificata) in Olanda (intercettazioni in partite di piante importate)
2015. *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* in Corsica e Francia continentale (**epidemie in campo**)
2015. *X. fastidiosa sandyi* and *pauca* in centri di giardinaggio di due Cantoni svizzeri
2016. *X. fastidiosa fastidiosa* in oleandro in una serra tedesca
2016. *X. fastidiosa fastidiosa*, *multiplex* e *pauca* nelle isole Baleari ed in Spagna continentale (**epidemie in campo**)



Mandorlo
Alicante
(Spagna)

QUALE FUTURO PER LA OLIVICOLTURA SALENTINA?

In attesa e nella speranza che le ricerche internazionali portino a soluzioni risolutorie affidarsi alla genetica sembra una via immediatamente percorribile:

A. Cultivars resistenti

Ricerca di cultivars resistenti da affiancare al Leccino e alla FS17 (Favolosa)



Indicazioni di resistenza: (1) molta meno *Xylella* in Leccino che in Ogliarola (133,267 cellule/ml di estratto di tessuto contro 2,094,000 cellule/ml). (ii) L'analisi comparativa del trascrittoma delle due cultivar ha dimostrato che in Leccino si attivano più geni che esprimono proteine (lectin receptor-like kinases) coinvolte nelle reazioni di resistenza



Leccino

Ogliarola

Ricerca di cultivars resistenti mediante la loro esposizione
alla infezione naturale (campo di Parabita)



Innesto a pezza di 250 diverse cultivars su piante infette di Ogliarola salentina

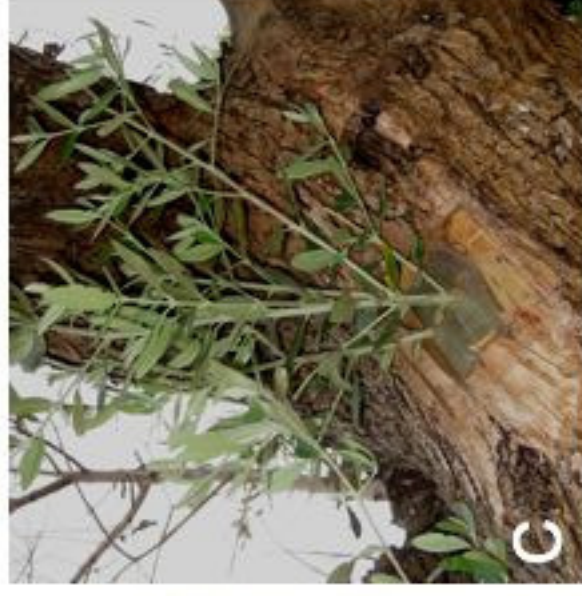


Sviluppo dei nidi
ed osservazione del
loro comportamento



B. Semenzali immuni: (i) da propagare
ed usare come tali
(ii) da utilizzare come donatori di resistenza
per il miglioramento genetico tradizionale

Salvare le piante monumentali mediante la ricostruzione della chioma con innesti a pezza da cultivars resistenti



Gigante di Alliste
Febbraio 2018

Frantoio

