



SCHEMA SINTETICA SU XYLELLA FASTIDIOSA

- *Xylella fastidiosa*
- Attività del CIHEAM-Bari

Il Mediterraneo ospita una consistente biodiversità di specie vegetali che è necessario salvaguardare per ragioni di ordine sociale, economico ed ambientale. Un'efficace strategia di protezione ecosostenibile è ritenuta pertanto quanto mai indispensabile per proteggere l'intera regione dalle minacce di natura fitosanitaria e dai rischi di erosione genetica.

Per questo motivo il CIHEAM di Bari rivolge particolare attenzione all'aggiornamento sulle problematiche fitosanitarie del Mediterraneo, soprattutto quelle relative alle specie invasive aliene e a nuovi organismi nocivi. A tal fine promuove azioni di **prevenzione**, attraverso la certificazione del materiale vivaistico, l'adozione di sistemi di sorveglianza precoce sul territorio, azioni di **controllo** con metodi eco-sostenibili. L'istituto risponde così alle pressanti sollecitazioni dei Paesi mediterranei di formare esperti e sviluppare la ricerca in ambito fitosanitario. Per meglio rispondere a queste finalità, ha sviluppato adeguate competenze del proprio personale interno e attrezzato opportunamente strutture e laboratori, nonché intensificato le reti di collaborazione con numerosi tecnici e ricercatori di istituzioni scientifiche, ministeriali e enti privati dell'area mediterranea.

Per la trentennale esperienza in ambito fitosanitario e per le strutture di quarantena in suo possesso, il CIHEAM di Bari è **Centro autorizzato dal MiPAAF per la detenzione di materiale infetto di alcuni organismi nocivi** a scopo di sperimentazione e ricerca scientifica ed è **Laboratorio accreditato dal Servizio Fitosanitario Regionale (SFR) per le analisi fitosanitarie** (certificati n. 28/6860 del 3/12/2002 e n. 514 del 12/11/2013). Ne consegue, pertanto, che il Centro ed il Laboratorio sono soggetti periodicamente a controllo da parte del SFR.

Oltre che riferimento regionale e mediterraneo per la Quarantena delle piante, il CIHEAM Bari è, con l'Università di Bari, uno degli istituti che ha promosso il **sistema di certificazione di materiale vivaistico frutticolo** a livello regionale e ha contribuito attivamente alla **selezione di genotipi locali sani di agrumi, vite e drupacee, di cui conserva in sanità le fonti primarie**.

Per le sue riconosciute competenze, fornisce da diversi anni il **supporto tecnico ed operativo alla Regione Puglia nel monitoraggio ufficiale di diversi patogeni da quarantena** (virus della tristezza degli agrumi, virus della vaiolatura delle drupacee, flavescenza dorata della vite, etc.), attività per la quale ha proposto anche soluzioni innovative di sorveglianza precoce sul territorio per migliorarne l'operatività su scala territoriale (es. schemi di campionamento efficienti, produzione di mappe di previsione dell'infezione in areali indenni, diagnosi precoce in sito, etc.).

Per il suo ruolo strategico nell'area mediterranea e per la sua finalità istituzionale, il CIHEAM di Bari pone particolare attenzione al **trasferimento** di tutte le innovazioni nel campo della quarantena e certificazione ad altri Paesi mediterranei (es. Albania, Algeria, Egitto, Libano, Malta, Siria, Tunisia). Lo fa in particolare attraverso i corsi di formazione e i progetti di cooperazione, sviluppando programmi di assistenza tecnica, realizzando laboratori diagnostici e formando i quadri tecnici locali.

In particolare, sull'organismo di quarantena *Xylella fastidiosa*, di recente introduzione in Europa e nel Mediterraneo, il CIHEAM di Bari ha svolto un ruolo fondamentale nell'attività di ricerca, formazione e monitoraggio.

XYLELLA FASTIDIOSA (*Xf*)

Organismo nocivo da quarantena	<p>Batterio xilematico, gram negativo, non sporigeno, che infetta diverse specie vegetali coltivate, forestali, ornamentali e spontanee</p> <p>Noto come <u>agente della malattia di Pierce su vite</u> in California e <u>variegatura clorotica degli agrumi</u> (CVC) in Brasile</p> <p>Si trasmette con materiale vegetale infetto e con diverse specie di cicadellidi xilematici</p> <p>Della specie <i>Xf</i> sono attualmente note almeno quattro subspecie: <i>fastidiosa</i>, <i>multiplex</i>, <i>sandyi</i>, <i>pauca</i></p>	<p>Lista A1, All. I, Parte A, Sez. I della Dir. 2000/29/CE</p> <p>Hopkins e Purcell, 2002</p> <p>Rossetti <i>et al.</i>, 1990</p>
Italia 2013-2015	<p>Prima segnalazione di <i>X. fastidiosa</i> in Italia (nella penisola salentina), associata al disseccamento rapido di olivo (CoDiRO), oleandro e mandorlo</p> <p>Prima segnalazione sulla presenza in campo di questo organismo sia in Europa che nel Mediterraneo</p> <p>Inizialmente l'organismo è stato rinvenuto in agro di Gallipoli su numerose piante di olivo con sintomi di CoDiRO molto evidenti</p> <p>Successivamente l'infezione si è estesa ad altri areali della provincia di Lecce</p> <p>Ultimamente, un focolaio puntiforme è stato riscontrato anche nel Brindisino (Oria)</p>	<p>Saponari <i>et al.</i>, 2013</p> <p>EFSA Journal 2015,13(1),3989</p>
Ceppo pugliese di <i>Xf</i>	<p>Caratterizzazione del ceppo pugliese: <i>X. fastidiosa</i> sub. <i>pauca</i> ceppo CoDiRO</p> <p>Le sequenze dei diversi isolati infetti con questo ceppo sono stati depositati nella <u>banca dati internazionale</u> dalla quale è emersa una correlazione filogenetica con un altro ceppo gemello isolato da oleandro presente in Costa Rica (l'olivo non è citato fra i suoi ospiti, perché assente nel Paese)</p>	<p>Cariddi <i>et al.</i>, 2014</p> <p>Elbeaino <i>et al.</i>, 2014</p> <p>Giampetruzzi <i>et al.</i>, 2015</p> <p>Sequenze MLST disponibili in http://pubmlst.org/xfastidiosa</p>
Probabile origine	<p>La pista costaricana appare al momento quella più probabile a spiegare l'origine del ceppo batterico italiano anche per:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ l'elevata quantità di materiale vegetale ornamentale annualmente introdotta in Europa ▪ le intercettazioni di Francia ed Olanda di piante di caffè infette provenienti dal Costa Rica (2014) 	<p>EPPO 2012/165</p> <p>Legendre <i>et al.</i>, 2014</p>
Trasmissione	<p>In Puglia l'unico vettore naturale accertato è <i>Philaenus spumarius</i> (cicalina detta anche sputacchina), insetto polifago.</p>	<p>Saponari <i>et al.</i>, 2014</p> <p>Elbeaino <i>et al.</i>, 2014</p>
Piante ospiti	<p>Il ceppo CoDiRO di <i>X. fastidiosa</i> ha mostrato di poter infettare, oltre all'olivo, anche altre specie vegetali coltivate (mandorlo, ciliegio), ornamentali (oleandro, polygala, ecc.) e spontanee (acacia, ecc.)</p>	<p>Saponari <i>et al.</i>, 2015</p>

ATTIVITA' DEL CIHEAM DI BARI SU *Xf*

2010	Azione COST 873 'Bacterial Diseases of Stone Fruits & Nuts'	
Sede del corso	<p>L'Istituto è stato scelto come sede del corso su <i>Xf</i> 'Phytopathological Training Course for the Regulated Biosecurity Pathogen <i>Xylella fastidiosa</i>' perché si occupa da circa 30 anni di prevenire problematiche fitosanitarie di quarantena, è dotato di competenze e strutture idonee, ed è ufficialmente riconosciuto come:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Centro autorizzato dal MiPAAF per la detenzione di materiale infetto di alcuni organismi nocivi ▪ Laboratorio accreditato dal SFR alle analisi fitosanitarie ▪ Centro internazionale di alta formazione per la Protezione Integrata delle specie orto-frutticole 	
Obiettivo	L'intento dell'azione COST 873 era quello di fornire ai ricercatori dei Servizi di quarantena dei Paesi europei strumenti di diagnosi precoce per poter ispezionare il materiale d'importazione da Paesi a rischio al fine di impedire l'introduzione di <i>Xf</i>	
Autorizzazioni	L'istituto ha ottenuto, dopo aver prodotto la documentazione necessaria, le autorizzazioni da parte del MiPAAF per la detenzione e manipolazione dell'organismo durante il corso	Nota IAMB Dir09/501 del 5/07/2010 Nota MiPAAF 0015355 del 9/07/2010 Nota IAMB Dir09/606 del 3/09/2010 Nota MiPAAF 0020556 del 20/09/2010
Isolati	<p>Gli isolati di <i>X. fastidiosa</i> usati nel corso, <u>tutti originari degli Stati Uniti dove non c'è la subspecie <i>pauca</i> (quella presente nel Salento)</u>, provenivano da collezioni ufficiali ed erano delle subspecie <i>fastidiosa</i>, <i>multiplex</i> e <i>sandyi</i></p>	<p>LMG , Università di Gent, Belgio Nota degli isolati acquisiti LMG Fattura spedizione tramite corriere</p> <p>Dep. of Laboratory Methods and Diagnostics del Dutch General Inspection Service, Olanda</p> <p>Lettera di accompagnamento della spedizione tramite corriere</p> <p>Tabella degli isolati utilizzati durante il corso</p>
Controllo	L'autorità fitosanitaria regionale (SFR) ha presenziato alle operazioni di apertura dei pacchi contenenti il materiale infetto al loro arrivo in laboratorio, di preparazione del materiale per il corso e di distruzione dello stesso alla fine del corso	Verbale di controllo 26/08/2010 Verbale di controllo 28/09/2010 Verbale di controllo 4/10/2010 Verbale di distruzione 8/11/2010 Verbale di distruzione 17/12/2010
Risultati	I risultati delle attività svolte sono stati pubblicati sul sito del COST 873 e su riviste scientifiche internazionali	www.cost873.ch Janse <i>et al.</i> , 2012 Relazione finale corso 8/02/2011
2013	Ricerca	
	A settembre l'istituto fu informato sulla problematica della moria dell'olivo a Gallipoli che, ad ottobre, fu poi associata a <i>X. fastidiosa</i> (prima segnalazione in Puglia)	Saponari <i>et al.</i> , 2013

Dopo la segnalazione, l'istituto ha subito avviato diverse ricerche ed ha partecipato al monitoraggio ufficiale a *Xf* sotto il coordinamento del SFR

**Validazione
tecniche di diagnosi**

Validazione delle tecniche ELISA e PCR per le analisi di monitoraggio a *Xf* in collaborazione con CNR, CRSFA e Di.SSPA-UniBA, UNIFG

Loconsole *et al.*, 2014
Atti del *International Symposium on the European outbreak of Xylella fastidiosa in olive* (Ottobre 2014, Gallipoli-Italia)

Isolamento e caratterizzazione di Xf	Isolamento da olivo ed oleandro e comunicazione al SFR e MiPAAF Caratterizzazione dell'isolato da olivo con la MLST: subspecie <i>pauca</i> ceppo <i>CoDiRO</i>	Elbeaino <i>et al.</i> , 2014
Insetti spia	Identificazione dei 3 potenziali insetti vettori/spia: <i>Philaenus spumarius</i> , <i>Neophilaenus campestris</i> , <i>Euscelis lineolatus</i>	Elbeaino <i>et al.</i> , 2014
Fotointerpretazione di immagini aeree	Fotointerpretazione di immagini aeree per identificazione piante di olivo 'CoDiRO'	Gualano <i>et al.</i> , 2014 D'Onghia <i>et al.</i> , 2014
XylApp	Dimensionamento e sviluppo di un'applicazione per Tablet con SO Android (XylApp), per individuazione, campionamento, georeferenziazione e trasmissione dei dati delle piante/insetti oggetto di monitoraggio	Santoro <i>et al.</i> , 2014
DTBIA real-time LAMP	Sviluppo di tecniche rapide di diagnosi <i>in situ</i> su olivo, altre specie ospiti ed insetti spia: <ul style="list-style-type: none"> ▪ DTBIA, immuno-impronta su membrana del materiale vegetale ▪ real-time LAMP su materiale vegetale ed insetti spia (finanziamento regionale) Oltre che più sensibili, rapide, facili ed economiche, tali tecniche hanno il vantaggio di evitare la movimentazione di materiale infetto, limitando così la diffusione del patogeno in nuove aree attraverso gli insetti infetti	Djelouah <i>et al.</i> , 2014 Yaseen <i>et al.</i> , 2014; 2015
XylWeb	Sviluppo di un software di gestione del flusso dei dati (XylWeb) che provengono sia dal campo che dai laboratori per facilitare la raccolta, archiviazione, tracciabilità, elaborazione in tempo reale dei dati del monitoraggio (Finanziamento regionale)	
Modello innovativo di monitoraggio	Sviluppo di un modello innovativo di monitoraggio multiattori, multidati, multidisciplinare per una sorveglianza rapida dell'infezione	D'Onghia <i>et al.</i> , 2014
2013	Monitoraggio ufficiale regionale	
	Subito dopo la prima segnalazione, l'istituto (laboratorio accreditato) ha svolto, insieme ad altre istituzioni pugliesi, le analisi di laboratorio nel monitoraggio ufficiale a <i>Xf</i> sotto il coordinamento del SFR (accordo con Regione Puglia) Alcune delle tecniche sviluppate dall'Istituto sono state introdotte nel monitoraggio ufficiale a <i>Xf</i> : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Fotointerpretazione ▪ Monitoraggio in campo degli 'insetti spia' ▪ XylApp (applicazione fornita a titolo gratuito) ▪ XylWeb Nell'ambito delle attività di monitoraggio, attualmente, l'Istituto svolge attività di accertamento sanitario su materiale vegetale e su insetti	
Formazione	Il CIHEAM-Bari, insieme al CNR, CRSFA e Di.SSPA-UniBA, ha organizzato e svolto attività di formazione sulle tecniche di monitoraggio a:	

	Servizi Fitosanitari Regionali, Consorzi di Difesa, Corpo Forestale dello Stato, Corpo di Polizia Provinciale di Lecce
2014	Altri contributi
MiPAAF & FVO	Contributo scientifico nell'ambito del Comitato nazionale del MiPAAF su <i>Xf</i> e degli incontri 'audit' con gli esperti della Commissione Europea del 'Food and Veterinary Office' (FVO)
Eventi divulgativi	<p>Il CIHEAM di Bari ha organizzato diversi eventi sia presso il proprio Istituto che in altre sedi italiane e Mediterranee per informare ricercatori e tecnici su <i>Xf</i> associata al CoDiRO in Puglia.</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Tavola rotonda su '<i>Xylella fastidiosa</i>: a serious menace to the Mediterranean fruit industry', (Istanbul-Turchia, 25-29 agosto 2014) nell'ambito del Congresso MPU e ISM. ▪ Seminario del Dr. R. Krugner (USDA, Parlier CA, USA) su 'Evaluation of Olive as a host of <i>Xylella fastidiosa</i> in California' (CIHEAM di Bari, 10 luglio 2014) ▪ Seminario del Prof. B. Duffy (Zurich University) su '<i>Xylella fastidiosa</i>: a serious threat worldwide' (CIHEAM di Bari, 17 Ottobre, 2014). ▪ Seminario della Dr. A.M. D'Onghia (CIHEAM di Bari) su 'Monitoraggio di <i>Xylella fastidiosa</i> in Puglia' (Università di Firenze, 19 febbraio 2015) ▪ Seminario della Dr. A.M. D'Onghia (CIHEAM di Bari) su 'Research addressed to the emergency of <i>Xylella fastidiosa</i> in Europe and the Mediterranean region' (Brussel, 25 febbraio 2015) nell'ambito della riunione del progetto AGRIMED: ricerca ed innovazione in agricoltura nel Mediterraneo. <p>Il CIHEAM di Bari ha collaborato all'organizzazione del <i>International Symposium on the European outbreak of Xylella fastidiosa in olive</i> (Ottobre 2014, Gallipoli-Italia) dove ha presentato 3 lavori scientifici.</p>
	Publicazioni scientifiche
	<p>Parte dei risultati della ricerca svolta presso il CIHEAM di Bari è stata presentata a convegni internazionali e pubblicata su riviste scientifiche internazionali.</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Janse J.D., Valentini F., Purcell A.H., Almeida R.P.P., 2012. Detection and identification methods and new tests as used and developed in the framework of COST873 for bacteria pathogenic to stone fruits and nuts-<i>Xylella fastidiosa</i>. <i>Journal of Plant Pathology</i> 94 (1, Suppl.), S147-S154. ▪ Elbeaino T., Yaseen T., Valentini F., Ben Moussa I., Mazzoni V., D'Onghia A.M., 2014. Identification of three potential insect vectors of <i>Xylella fastidiosa</i> in southern Italy. <i>Phytopathologia Mediterranea</i> 53(2), 328-332. ▪ Djelouah K., Frasheri D., Valentini F., D'Onghia A.M., Digiario M., 2014. Direct tissue blot immunoassay for detection of <i>Xylella fastidiosa</i> in olive trees. <i>Phytopathologia Mediterranea</i> 53, 3, 207–212. ▪ Elbeaino T., Valentini F., Abou Kubaa R., Moubarak P., Yaseen T., M. Digiario, 2014. Multilocus Sequence Typing of <i>Xylella fastidiosa</i> isolated from olive associated with "Olive quick decline syndrome (OQDS)" in Italy. <i>Phytopathologia Mediterranea</i> 53, 3, 533–542. DOI: 10.14601

- Loconsole G., Potere O., Boscia D., Altamura G., Palmisano F., Pollastro P., Silletti M.R., Trisciuzzi N., Djelouah K., Elbeaino T., Frasheri D., Lorusso D., Valentini F., Savino V., Saponari, 2014. Detection of *Xylella fastidiosa* in olive trees by molecular and serological methods. *Journal of Plant Pathology* 96 (1), 7-14.
- Gualano S., Tarantino E., Santoro F., Valentini F., Dongiovanni N., D'Onghia A.M., 2014. Analisi assistita da immagini aeree ad elevata risoluzione geometrica per il riconoscimento del CoDiRO associato al batterio *Xylella fastidiosa* in Puglia. *Atti ASITA* (Ottobre, 2014).
- D'Onghia A.M., Santoro F., Gualano S., 2014. Remote sensing and information technology applied in the monitoring of olive and citrus pathogens (*Xylella fastidiosa* and *Citrus tristeza virus*) in Apulia region, Southern Italy. Workshop on Crop Monitoring and Yield Forecasting in North African and Southern Mediterranean countries, Rabat, Morocco (19-21 November 2014) (poster).
- Yaseen T., Drago S., Valentini F., Elbeaino T., Digiario M., Stampone G., D'Onghia A.M., 2014. On-site detection of *Xylella fastidiosa* in olive trees (*Olea europaea* L.) and insects using the real-time loop-mediated isothermal amplification method. *Phytopathologia Mediterranea* (in fase di revisione).

Lavori presentati al International Symposium on the European outbreak of *Xylella fastidiosa* in olive (Ottobre 2014, Gallipoli-Italia)

- D'Onghia A.M., Santoro F., Yaseen T., Djelouah K., Guarino A., Percoco A., Valentini F., 2014. An innovative monitoring model of *Xylella fastidiosa* in Apulia region, Italy. *Atti del Convegno*, 33 (presentazione orale).
- Yaseen T., Djelouah K., Valentini F., Elbeaino T., Frasheri D., Digiario M., D'Onghia A.M., 2014. Recently-developed methods for in situ detection of *Xylella fastidiosa* in olive trees and insects *Atti del Convegno*, 45 (poster).
- Santoro F., Favia G., Valentini F., Gualano S., Guarino A., Percoco A., D'Onghia A. M., 2014. Development of an Information Acquisition System for field monitoring of *Xylella fastidiosa*, *Atti del Convegno*, 48 (poster).
- Loconsole G., Potere O., Elbeaino T., Frasheri D., Frisullo S., Palmisano F., Boscia D., Saponari M. (2014). Interlaboratory validation of molecular and serological diagnosis of *Xylella fastidiosa* strain in CoDiRO susceptible host plants. *Atti del Convegno*, 35 (presentazione orale).