

**Relazione scientifica sui risultati dell'attività di ricerca svolta
nell'ambito del programma STM 2014
dalla Dott.ssa Maria Saponari**

Titolo del programma: Studi di genotipizzazione di un nuovo isolato di *Xylella fastidiosa* segnalato su olivo.

Fruitore : Saponari Maria, Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante (ex Istituto di Virologia Vegetale), CNR, UOS di Bari – IPSP.

Istituzione ospitante: Centro de Citricultura Sylvio Moreira (Istituto Agronômico), San Paolo, Brasile.

Periodo del soggiorno: 22 aprile – 12 maggio 2014.

Attività svolta e ricadute sperimentali:

Recentemente la diffusione del batterio da quarantena, *Xylella fastidiosa*, mai segnalato prima d'ora in Europa e nel Mediterraneo, ha determinato una vera e propria emergenza fitosanitaria che sta interessando l'olivicoltura pugliese e del Salento in particolare, ove la sopravvivenza degli olivi secolari è seriamente compromessa. Questo batterio è noto quale agente causale di gravi malattie della vite e degli agrumi nel continente americano, ove il batterio è stato ritrovato alla fine del 1800, e dove considerevoli risorse finanziarie sono state destinate alla ricerca scientifica ed ai programmi di controllo e management delle epidemie. E' stato quindi indispensabile e fondamentale attivare collaborazioni con centri di ricerca americani che già lavorano sulle problematiche fitosanitarie connesse a *X. fastidiosa*. In questa ottica la collaborazione attivata, nell'ambito di questo programma STM, con il Centro de Citricultura Sylvio Moreira - Istituto Agronômico-San Paolo, Brasile) è stata basilare per il trasferimento all'IPSP di competenze basilari per l'impostazione di un idoneo ed efficace programma di ricerca che tenesse conto delle conoscenze e delle esperienze già sviluppate laddove il patogeno è presente da diverso tempo. Ciò è indispensabile per accelerare e massimizzare gli sforzi nel campo della ricerca, evitando la dispersione di energie e risorse nell'affrontare aspetti già investigati presso centri di ricerca americani che da anni si occupano di questa problematica.

Le attività e la collaborazione attivata nel periodo di stage sono state finalizzate ad investigare i diversi aspetti di questo patogeno, dalla genetica, alla biologia ed epidemiologia:

- sviluppare analisi comparative sulla genetica del ceppo rinvenuto in Puglia, rispetto ai ceppi dello stesso "cluster" caratterizzati in sud-America (Brasile ed Argentina).
- acquisire conoscenze sulla manifestazione sintomatologica e sulla distribuzione delle infezioni in campo;
- acquisire le tecniche, i protocolli e le procedure per l'isolamento in coltura pura del batterio;

- acquisire esperienza nella preparazione dei materiali vegetali e della coltura batterica ai fini delle prove di patogenicità.

Le attività preliminari di **caratterizzazione genetica** di questo isolato, avevano evidenziato che si tratta di un ceppo appartenente alla sottospecie *pauca* (che infetta gli agrumi ed il caffè) e sinora segnalata solo in sud-America, e principalmente in Brasile. L'analisi filogenetica è stata effettuata con i programmi standard di allineamento (ClustalV, Genedoc e MEGA4) la comparazione di un dataset di sequenze in possesso del Centro de Citricultura Sylvio Moreira, ottenute da isolati di diversa provenienza (Stati Uniti, Brasile, Argentina) e da diverse specie ospiti (susino, agrumi, caffè, ibisco). L'analisi genetica è stata fondamentale per acquisire informazioni sulla possibile origine e sul potenziale pathway di introduzione del ceppo riscontrato nell'areale pugliese. Similarità genetica è stata infatti riscontrata soltanto con un isolato caratterizzato in Costa Rica, mentre l'isolato "pugliese", recentemente denominato ceppo CoDiRO (dal nome della malattia a cui risulta associato, Complesso del Disseccamento Rapido dell'Olivo), è risultato filogeneticamente distinto dai ceppi già noti e più comunemente diffusi in Brasile, Stati Uniti ed Argentina. Questo dato aiuta quindi a focalizzare la ricerca del centro di origine del ceppo CoDiRO, nonché a fornire gli elementi utili a meglio indirizzare i controlli sulla movimentazione del materiale vegetale verso determinate rotte di commercializzazione.

Ai fini degli **studi epidemiologici**, passo fondamentale per arrivare alla programmazione di adeguate strategie di controllo e contenimento, sono stati effettuati sopralluoghi in agrumeti soggetti ad infezioni da *X. fastidiosa*, ed effettuati rilievi sintomatologici, prelievi di campioni e analisi del pattern di distribuzione delle infezioni in campo e all'interno della pianta infetta. Questo tipo di attività ha permesso di acquisire le nozioni base per poter affrontare uno studio epidemiologico nell'areale olivicolo contaminato (numero di parcelle sperimentali da considerare, numero di piante, numero di rilievi da effettuare, tipo di campione da prelevare e relativo periodo). Contestualmente è stato visitato, presso l'Università di Piracicaba, il dipartimento di Entomologia diretto dal Prof. J. Lopez, uno dei massimi esperti internazionali di vettori di *X. fastidiosa*, con cui sono stati attivati i contatti necessari per implementare le attività di ricerca sui vettori presenti nell'areale pugliese.

Tra le diverse delle attività sviluppate, quella che ha determinato la maggiore ricaduta pratica e scientifica è l'acquisizione dei protocolli e delle metodologie procedurali per **l'isolamento del batterio** in coltura pura. Questo aspetto della ricerca è il passo fondamentale per conoscere una serie di aspetti della biologia del patogeno (virulenza, severità delle infezioni, piante ospiti). E' infatti indispensabile disporre della coltura batterica per poter effettuare tutta una serie di sperimentazioni basate sulla inoculazione artificiale del materiale vegetale, e studio dell'evoluzione delle infezioni e suscettibilità di diverse piante ospiti. L'esperienza maturata presso il Centro de Citricultura Sylvio Moreira, ha permesso di ottenere, per la prima volta sin dalla segnalazione del primo focolaio di *X. fastidiosa* nel Salento, risultati positivi nell'isolamento della coltura da olivo (ospite preferenziale), da mandorlo e successivamente da ciliegio. L'ottenimento della coltura (fine Maggio 2014) permetterà di attivare nell'immediato le prove di patogenicità finalizzate

a definire il ruolo di *X. fastidiosa* nello sviluppo della grave malattia che sta interessando gli oliveti salentini, e soprattutto definire se altre specie agrarie e forestali di importante rilevanza economica possano essere specie ospiti.

Bari, 9/07/2014

In Fede

Dott.ssa Maria Saponari

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Maria Saponari', with a long, sweeping flourish extending to the right.