

Rapporto *Xylella*

Gruppo di lavoro

Roberto Bassi (Linco, Università degli Studi di Verona)

Giorgio Morelli (Linco, Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria)

Francesco Salamini (Linco, Coordinatore)

INDICE

1. Riassunto e conclusioni	2
2. Introduzione	5
3. <i>Xylella</i> e il ruolo della buona agrotecnica	7
4. Il Piano operativo della Regione Puglia	12
5. La verifica di scientificità di diverse ipotesi e posizioni sulle cause, sugli effetti e sulla diffusione della malattia da <i>Xylella fastidiosa</i> subsp. <i>pauca</i>	19
6. Cosa fare per contrastare la malattia e per rimuovere l'attuale stato di stallo?	23
7. <i>Xylella</i> tra scienza e società civile	28
8. Note	30
Allegato A	35
Allegato B	39
Allegato C	47
Allegato D	58
Allegato E	74
Allegato F	82

Abbreviazioni: CE, *Comunità Europea*; CNR, *Consiglio Nazionale delle Ricerche*; CoDiRO, *Complesso del Disseccamento rapido dell'olivo*; COST, *European Cooperation in Science and Technology*; DiSSPA, *Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti*; DiSTeBA, *Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali*; EFSA, *European Food Safety Authority*; EPPO, *European and Mediterranean Plant Protection Organization*; EPS, *polisaccaridi extracellulari*; GdF, *Guardia di Finanza*; IAMB, *Istituto Agronomico Mediterraneo di Bari*; IPSP, *Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante*; ISI, *Institute of Scientific Information*; ISPA, *Istituto per le Produzioni Alimentari*; LAIR, *Law and Agroecology – Ius et Rus*; MiPAAF, *Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali*; NAC, *N-Acetylcisteina*; NIF, *Nucleo Investigativo di Polizia Ambientale e Forestale*; PCR, *Polymerase Chain Reaction*; PD, *Pearce's disease della vite*; subsp., *sottospecie*; UE, *Unione Europea*.

1. Riassunto e conclusioni

Riassunto

Il rapporto del Gruppo di lavoro costituito per lo studio della moria degli olivi in Puglia riconosce, preliminarmente, lo *status quo* scientifico dell'evenienza batteriosi da *Xylella* - come analizzato dall'EFSA, verificato *in loco* nel corso di incontri con scienziati e tecnici e con il contributo dei dati disponibili dalla bibliografia – e presta attenzione particolare ai diversi livelli di interazione tra addetti scientifici e tra associazioni ambientaliste. Fa riferimento a sei allegati i cui titoli seguono. Al Gruppo è stato richiesto di compilare un rapporto analitico delle notizie raccolte, delle posizioni di diversi scienziati, tecnici e operatori del settore, delle concause specialmente di natura agrotecnica che contribuiscono a intensificare o ridurre la nocività del batterio e delle implicazioni sociali e deontologiche che emergono dal caso. Anche questi aspetti vengono considerati, incluso il pericolo che la presenza del batterio in Puglia rappresenta per l'intera Europa.

- Allegato A. Cronologia degli eventi nello sviluppo del caso *Xylella*, comprensiva di un elenco delle normative regionali, nazionali e internazionali che regolano simili situazioni. Azioni attivate da MiPAAF, Regione Puglia e EU.
- Allegato B. Calendario delle visite e dei colloqui. Note da visite e colloqui con tecnici e ricercatori.
- Allegato C. Epidemia *Xylella* in Puglia: analisi genomica e origine del contagio.
- Allegato D. Note estratte dalla bibliografia.
- Allegato E. Note da documenti dell'European Food Safety Authority (EFSA).
- Allegato F. Bibliografia.

Conclusioni

L'agente causale della malattia è *Xylella fastidiosa*, una conclusione che abbiamo accettato come non più discutibile. Tutti gli isolati di *Xylella* all'analisi molecolare sono riconducibili a un identico genotipo: *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* e sequenza tipo ST53, denominato ceppo *CoDiRO* per distinguerlo da altri ceppi *pauca*. La loro omogeneità molecolare sostiene l'origine della malattia da una unica e recente fonte di infezione. I vettori della malattia sono gli insetti e le piante che dai vivai vengono trasportate in nuovi impianti olivicoli.

La significatività di eventuali concause associate a un ruolo primario - o meno diretto - della *Xylella*, è sfortunatamente poco accertabile poiché i dati disponibili sull'effetto di una pluralità di interventi agrotecnici e di condizioni ambientali sono a dir poco scarsi. Sono, nel contesto,

giustificate le risposte negative dell'ESFA alle proposte di cause infettive primarie, biotiche e abiotiche, alternative all'infezione batterica.

Xylella causa nuove e importanti malattie; la diffusione dei suoi vettori rende *Xylella* di rilevante interesse economico per i danni che procura. La patogenicità nei nuovi areali colonizzati da ceppi esotici di *Xylella* è la causa di associazioni pianta-patogeno prima non riportate.

Le conseguenze della presenza del batterio in Puglia, come anche in Corsica e nella regione Provenza-Alpi-Costa Azzurra, rappresentano un grave pericolo per l'Europa. Più ceppi di *Xylella*, presenti nello stesso ospite, possono ricombinare i loro genomi formando ibridi che, dando inizio a nuovi cicli di speciazione di *Xylella*, potrebbero attaccare e distruggere importanti alberi e arbusti di interesse agrario e selvatici presenti nel continente europeo.

Il Gruppo linceo non comprende la contrapposizione che sul caso *Xylella* vede su sponde opposte i ricercatori di Bari e Lecce. Non giustifica, soprattutto, la sua radicalizzazione, da alcuni ricondotta alla competizione per l'accesso ai fondi per lo studio della nuova malattia. Inoltre, registra la presenza di posizioni ideologiche locali che si oppongono al possibile trasferimento di conoscenze scientifiche, che rifiutano modelli agricoli tecnologicamente avanzati e che sono state estese anche al caso *Xylella*. Sarebbe invece urgente abbassare l'eccesso dialettico che confonde lo sviluppo di possibili esperimenti e la definizione di conclusioni scientifiche, necessarie e preliminari a decisioni normative e operative.

Una espressa volontà di conoscere di più e di agire in base a risultati sicuri, e non solo a intuizioni e pregiudizi, è condizione non ritardabile. Il Gruppo linceo, al proposito, è sorpreso che esperimenti di tipo agronomico, anche molto semplici, non siano stati ancora condotti o addirittura programmati, come invece è stato fatto nei casi di infezioni analoghe che negli ultimi 40 anni si sono verificate nelle Americhe.

Visti i risultati ottenuti, si conclude che i fondi assegnati alle Istituzioni di ricerca baresi sono stati utilizzati al meglio. Tuttavia, l'assegnazione da subito di contratti di ricerca per sperimentazioni di tipo agronomico da condurre in campo potrebbe contribuire a ricondurre la discussione su binari scientifici.

Le misure relative al contenimento dell'infezione proposte dalle regole europee prevedono nella striscia esterna dell'area di contenimento contigua alla zona *buffer*, la rimozione delle piante infette e un efficace monitoraggio per prevenire la diffusione del patogeno. La riduzione delle popolazioni del vettore ottenibile applicando metodi chimici o biologici, con approcci meccanici o con altre procedure sostenibili, può contribuire. Il rapporto elenca una lunga serie di altre misure che, se

motivate in base a dati sperimentali ottenuti localmente, possono rendere possibile il contenimento e l'ulteriore diffusione del batterio. La valutazione di quanto è stato proposto per il contenimento e la cura della malattia, considera quattro angolazioni diverse: *Contenimento dell'infezione e gestione dell'oliveto dove il batterio è presente; Cura della pianta malata; Necessità di ricerca; Interazione tra Istituzioni e loro possibilità di recedere da posizioni non corrette sul caso.*

Dopo il blocco delle eradicazioni dovuto al sequestro degli olivi da parte dell'Autorità Giudiziaria, solo recentemente la Regione Puglia ha provveduto a stilare un nuovo Piano contenente nuove misure. Il Gruppo linceo fa notare che le diverse versioni del Piano mentre sono precise nel definire le misure da adottare - questo anche perché condizionate dalle normative europee - dedicano poca attenzione a motivare, in base a dati certi desunti da verifiche sperimentali fatte nel territorio pugliese, la ragione dell'applicazione delle misure. Il Gruppo linceo, al proposito, rileva che nuovi e semplici esperimenti agronomici non sono stati ancora condotti o programmati, per aiutare una migliore definizione di misure applicative per il contenimento dell'infezione, e, soprattutto, per contribuire a salvare gli olivi monumentali. A livello europeo, l'Avvocato generale della Corte di Giustizia dell'Unione Europea Yves Bot, nel formulare le proprie conclusioni nell'ambito delle funzioni di assistenza alla Corte stessa, ha confermato la correttezza delle misure di prevenzione previste e la necessità di applicarle al più presto.

Il Gruppo linceo condivide le certezze sul caso *Xylella* dei ricercatori baresi, su cui si basano le conclusioni dell'EFSA, poiché fondate su solida base scientifica. Il Gruppo linceo rileva, inoltre, che alcuni ricercatori che hanno contribuito a sostenere ipotesi alternative, a fronte di elementi scientifici certi emersi nell'ultimo anno, non hanno riveduto le loro posizioni e preso le distanze dai gruppi che le sostengono.

2. Introduzione

Il caso *Xylella*, il batterio che minaccia di distruggere gli olivi della Puglia, ha visto il formarsi di opinioni eterogenee, all'inizio legate alla possibilità di cause diverse e multiple di insorgenza dell'epidemia (Nota 1). Da qui inizia il coinvolgimento dell'Accademia dei Lincei, in ragione della possibilità che la pratica della ricerca scientifica possa essere impiegata strumentalmente per finalità differenti da quelle propriamente scientifiche e in base a ragioni con esse non compatibili.

Dando seguito a una lettera del 6 maggio 2015, del Prof. Giovanni Martelli, socio dell'Accademia dei Lincei, il Presidente Lamberto Maffei ha nominato, il 10 marzo 2016, un gruppo di lavoro coordinato dal socio linceo Francesco Salamini e composto dallo stesso e dai soci Roberto Bassi e Giorgio Morelli per lo studio della questione. C'è una rilevante complicazione: il mondo sociale pugliese ha posizioni molto variegata sul caso, spesso contrarie a quelle di chi ha affrontato sperimentalmente la ricerca dell'agente causale dell'epidemia (b16).

Nel frattempo, i dati recentemente pubblicati (riassunti nell'Allegato C) hanno stabilito che l'agente responsabile del *Complesso del Disseccamento rapido dell'olivo (CoDiRO)* è il batterio *Xylella fastidiosa*, sottospecie *pauca*. Il presente rapporto riconosce lo *status quo* scientifico dell'evenienza *Xylella* in Puglia, come analizzato con cura dall'EFSA, verificato *in loco* nel corso di incontri con scienziati e tecnici e considerando i dati disponibili dalla bibliografia. Inoltre, presta particolare attenzione ai diversi livelli di interazione tra addetti scientifici, produzione agraria, istanze ambientali. Le conclusioni dell'EFSA confermano l'individuazione in *Xylella* dell'agente causale della malattia e negano altre proposte di cause infettive primarie, biotiche e abiotiche, alternative all'infezione batterica (EFSA 2015a; 2015b; 2015d; 2016a; 2016b; 2016c; 2016d). All'EFSA era stato assegnato anche il compito di (i) valutare il rischio di *Xylella* e del suo vettore per l'intera Europa; (ii) identificare le opzioni per ridurre il rischio e valutarne la loro efficacia; (iii) valutare le azioni fitosanitarie contro la malattia come da direttiva 2000/29/EC; e (iv) agire sulla base dei dati che emergono dalle indagini condotte nell'area infetta pugliese (Bragard, 2016).

A fronte delle forti preoccupazioni europee relative alla possibile entrata di questo batterio nel continente, si registra lo scetticismo di molti ricercatori e tecnici locali sull'agente causale della malattia dell'olivo. Già nel 2000, al tempo della pubblicazione a cura dei ricercatori brasiliani del genoma della *Xylella*, quanto gli autori espongono avrebbe dovuto allertare della pericolosità del

batterio. Nel lavoro di Simpson e collaboratori (2000), infatti, si commentava che *Xylella* ha geni simili a quelli del *cluster* 21 dei geni *rpf* di *Xanthomonas* (*Rpf, regulation of pathogenicity factors*), che codificano per proteine regolatrici della sintesi di enzimi componenti l'arsenale di virulenza. Ci si sarebbe dovuti chiedere, già allora, perché un batterio, al tempo relativamente sconosciuto, abbia avuto il suo genoma sequenziato, primo in questo tra i batteri patogeni per le piante (Almeida e Nunney, 2015). Di fatto, nuove e importanti malattie sono causate dal batterio e la diffusione dei suoi vettori rende *Xylella* di rilevante interesse economico per i danni che procura (Chatterjee *et al.*, 2008). Per alcune di queste malattie la patogenicità nei nuovi areali colonizzati da ceppi esotici di *Xylella* è la causa di associazioni pianta-patogeno prima non riportate (Hopkins e Purcell, 2002).

Il rapporto contiene una considerazione critica delle misure adottabili per contenere il batterio. Gli estensori del rapporto, tuttavia, sono pessimisti sulla possibilità di confinare l'infezione. Ricercatori dell'Università di Napoli sostengono che il batterio ha la capacità di diffondersi in tutto il bacino del Mediterraneo, colpendo olivi e piante autoctone in Portogallo, Spagna, Italia, Corsica, Albania, Montenegro, Grecia e Turchia, così come in tutti i paesi del nord Africa e del Medio Oriente. In Italia, il batterio si può diffondere oltre il nord della Puglia in Calabria, Basilicata, Sicilia, Sardegna, Campania, Lazio, e sud della Toscana (Bosso *et al.*, 2016). Inoltre, la valutazione EFSA del rischio *Xylella* conclude che i vettori della malattia sono gli insetti e le piante che dai vivai si diffondono per trasporto in aree olivicole, e che le conseguenze della presenza del batterio in Puglia rappresentano un grave pericolo per l'agricoltura e l'ambiente Europeo (Stancanelli *et al.*, 2015).

3. *Xylella* e il ruolo della buona agrotecnica

Nell'agosto 2013 a Taviano (Lecce) vengono segnalate piante di olivo con disseccamenti fogliari. Il caso diventa oggetto di indagini da parte dell'Università di Bari (DiSSPA) e del CNR di Bari (IPSP). Qualche mese prima, nel corso di un convegno, i sintomi erano stati associati alla presenza dell'insetto *Zeuzera pyrina*. Saponari del CNR esclude l'insetto e suggerisce di ricercare altri agenti eziologici. Martelli, ricordando disseccamenti osservati in California su vite, suggerisce l'ipotesi *Xylella* come possibile agente causale. Saponari via PCR e sequenziamenti conferma la presenza di *Xylella* su 10 olivi, e su mandorli e oleandri. Il 13 ottobre 2013 Saponari, Martelli, Boscia e Nigro segnalano il caso al Servizio fitosanitario regionale, che lo trasmette a quello nazionale e a Bruxelles (ricostruzione in b1, Allegato B).

La presenza di *Xylella* segnalata alla fine del 2013 non dimostrava che il batterio fosse il solo agente causale. In quei mesi altre ipotesi si aggiungono a quella di *Xylella*. L'Università di Lecce e associazioni ambientaliste e di agricoltori propongono una ipotesi alternativa che si basa sul ruolo di funghi e insetti, nonché sulla cattiva condizione degli olivi del Salento risultante dall'inquinamento ambientale e da inadeguate o inesistenti pratiche agronomiche. Si basa anche sulla convinzione che nel Salento fossero presenti diversi ceppi di *Xylella*, ipotesi oggi negata da evidenze sperimentali (Allegato C). Ceppi multipli avrebbero suggerito che il batterio è un ospite usuale di questa pianta, incluso il ceppo CoDiRO, visto, perciò, come un agente secondario dell'insorgenza della malattia. L'ipotesi è in sintonia con quanto sostengono le associazioni ambientaliste locali e alcuni agricoltori (b16). Si delinea, così, un fronte leccese del "no *Xylella*" che si contrappone a uno barese (ancora nel marzo 2016, Luigi De Bellis, direttore del Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali, DiSTeBA, dell'Università di Lecce, mette in dubbio che l'agente causale sia *Xylella*). Si noti che nel 2013 i ricercatori baresi hanno anche verificato, escludendolo, il ruolo di funghi e insetti nell'eziologia della malattia (Nigro *et al.*, 2013; Martelli 2013; EFSA 2015d).

Alla data di completamento di questo rapporto la situazione è chiara: l'agente eziologico è *Xylella* subsp. *pauca*, una conclusione che abbiamo accettato come non più discutibile (citazioni nell'introduzione; Allegato C). Tuttavia, permangono diverse posizioni sulla eziologia focalizzantesi gradualmente su concause eventuali e sui fattori che influiscono sull'espressione dei sintomi dell'infezione. Il fronte leccese (b23, b26; b30; b31) crede che concause possano esistere se in agro di Gallipoli si ritrovano oliveti sani ed altri distrutti, evidenza poco spiegabile con quanto noto sullo sviluppo di una epidemia batterica. Possono essere coinvolti: trascuratezza agronomica, funghi,

l'insetto *Zeuzera pyrina*, cattiva conduzione degli oliveti infetti e non. Le cattive pratiche agrotecniche, come errori di potatura o potature troppo radicali, delle lavorazioni, dei trattamenti, degli erbicidi e in particolare l'uso del glifosate – un erbicida - predispongono la pianta alla malattia, se addirittura non la fanno ammalare. Contaminazioni da polveri industriali, da cemento, da concimi ottenuti dalle ceneri e l'eccesso d'uso dell'acqua di falde inquinate, renderebbero, inoltre, meno efficaci le agrotecniche in uso.

L'interpretazione barese delle concause è diversa. Guarino *et al.* (2013) la precisano in termini sintetici, in tempi in cui la diversità di posizioni non era ancora radicalizzata: “*Tra le cause dei disseccamenti sono stati esclusi l'inquinamento della falda e delle acque di irrigazione o l'immissione di sostanze tossiche nel terreno, in quanto la sintomatologia interessava esclusivamente gli olivi e non altre colture (agrumi e altri fruttiferi compresa la vite), piante ornamentali o specie vegetali comunemente presenti nella stessa zona, anche in forma consociata, le quali, seppur riportate come sensibili a xenobiotici, non mostravano alcun sintomo di deperimento vegetativo*”. Saldarelli, del CNR (b24), su causa e concause cita una visita ai terreni di Gallipoli dell'ottobre 2013, dove gli olivi mostravano sintomi da batteriosi. I sintomi erano presenti anche in appezzamenti condotti bene, con potature adeguate, irrigati. Lo stesso vale per l'olivicoltura biologica, non rilevante nel discostarsi da quella convenzionale in termini di livello e diffusione dell'epidemia. Mantengono simili posizioni gli intervistati i cui pareri si riportano nelle note b1, b10, b11, b24.

La significatività di eventuali concause associate a un ruolo primario - o meno diretto - della *Xylella*, è sfortunatamente poco accertabile poiché i dati disponibili sull'effetto di una pluralità di interventi agrotecniche e di condizioni ambientali sul controllo e diffusione della malattia sono a dir poco scarsi. Lo stato di carenza delle conoscenze su possibili concause è accettato anche da alcuni dei fautori più o meno convinti – o che nel passato sono stati meno convinti - della versione leccese dell'eziologia del disseccamento rapido (b23; b27; b30). La discussione sulle concause viene riassunta da un esaustivo documento EFSA (2016d) preparato dal Panel PLH, il *Panel on Plant Health* dell'EFSA. Il Panel è composto da 21 scienziati europei di alta caratura professionale, specialisti di malattie delle piante. Recenti posizioni contrarie alla strategia di controllo EU in atto contro *Xylella fastidiosa* (Decisione EU 2015/7893) si sono manifestate in sede di ricorso alla Corte Europea di Giustizia, ed il Panel PLH è stato sollecitato a produrre pareri. Le posizioni contrarie riguardano: 1) l'eterogeneità delle popolazioni di *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* in Puglia; 2) le possibili concause della malattia; 3) il ruolo di *Xylella fastidiosa* nella morte delle piante; 4)

l'efficacia della rimozione delle piante infette sulla diffusione del batterio nelle diverse zone, previste dalle normative nazionali e internazionali; 5) i metodi di cura per le piante ammalate; 6) l'uso di insetticidi contro il batterio. Il Panel risponde, nel documento citato, ai contenuti dei punti 2, 3, 4, e 6 (la richiesta di chiarimenti della quale al punto 1 è oggetto di un secondo documento, EFSA, 2016a).

Risposte del Panel PLH

Al punto 2. *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* è l'agente causale del CoDiRO degli olivi. Al punto 3. I sintomi sull'olivo infetto sono dovuti a *stress* da carenza di acqua a causa della occlusione da parte del batterio dei vasi xilematici. Tutti gli interventi che migliorano lo stato vegetativo della pianta prolungano la sua fase produttiva ed estendono la fase asintomatica della malattia. Al punto 4. il Panel considera la rimozione delle piante infette, condotta secondo regole precise, come la sola opzione disponibile per prevenire l'ulteriore comparsa del parassita in nuove aree. Nella striscia esterna della zona di *contenimento* contigua alla zona *buffer* (Nota 2), la rimozione delle piante infette e un efficace monitoraggio potrebbero prevenire la diffusione del patogeno. Nei nuovi focolai, la rimozione radicale di piante ospiti di *Xylella*, siano esse infette o non infette, entro il raggio descritto dalla regolamentazione EU, può essere efficace nel contenere il patogeno. Al punto 6. La riduzione delle popolazioni del vettore, ottenibile applicando metodi chimici o biologici, con approcci meccanici o con altre procedure sostenibili, può contribuire ad abbassare la diffusione del batterio. Al momento non si ha evidenza di effetti negativi dei pesticidi nell'interazione di *Xylella* con le piante di olivo, nè con la severità dei sintomi e l'insorgenza dell'infezione.

Nel contesto della discussione relativa alle concause del CoDiRO, e accettata la posizione EFSA espressa al punto 2 del suo rapporto, la risposta al punto 3 è positiva per la buona agrotecnica come importante strumento per potenziare la resistenza della piante (il vettore, tuttavia, preferisce piante in ottimo stato vegetativo; Daugherty *et al.*, 2011); in questo, EFSA accetta alcune delle posizioni di chi suggerisce di convivere con la malattia adottando buone pratiche agronomiche quali riduzione e aerazione della chioma alta, regolari potature e spollonature, una corretta gestione della fertilità del suolo, tecniche migliorative e conservative della sostanza organica del terreno, uso di *compost* e acqua, controllo dei funghi che peggiorano lo stato sanitario già compromesso, varietà tolleranti, lavorazioni superficiali e minime del terreno (b23; Perrino, 2015). Il Panel EFSA è severo, invece, per la parte sostenitrice di rilevanti concause agronomiche, dove indica la rimozione delle piante

come metodo principale di contenimento dell'epidemia e la necessità di interventi differenziali per le diverse zone.

In sintesi, la situazione è purtroppo aperta e ancora oggi concede spazio a diversificate visioni, financo fantasiose, della causalità dell'epidemia. Nel tempo, i temi oggetto della contrapposizione aumentano e le posizioni si sfaccettano: esiste disputa su causalità di *Xylella* sì o no; sull'effetto della buona e cattiva agrotecnica; sugli abbattimenti di olivi, con relative implicazioni rappresentate dall'osservanza o meno di normative nazionali ed europee. Sarebbe invece urgente ridurre l'eccesso dialettico in favore di conclusioni scientifiche, necessarie e preliminari a decisioni normative e operative. Temi da considerare eventualmente e che sono propri dei contenuti di questo capitolo del rapporto, riguardano: la cura *in planta* degli attacchi del batterio (come sperimentato in California per la vite); la definizione precisa di stati di *stress* (es. siccità) che possono accentuare i sintomi, specialmente dell'appassimento (Hearon *et al.*, 1980; ma i dati locali a sostegno sono molto scarsi); gli effetti della potatura descritti talvolta positivamente ma anche negativamente. E' risultata efficace nel caso di *Citrus variegated chlorosis* dell'arancio in Brasile (do Amaral *et al.*, 1994; Della Colletta Filho, 2016), ma, in quel caso, è stata rigorosamente adottata all'inizio dell'infezione e integrata da altre misure di contenimento. Uno su 21 casi di tentativi di trasmissione da forbice da potatura ha indotto l'infezione di *Xylella*, dato da considerare percentualmente non significativo, ma che necessita di essere verificato come possibile meccanismo di nuove infezioni (Krell *et al.*, 2007; b28). Nelle piante sintomatiche la potatura non riduce la concentrazione dei batteri (Holland *et al.*, 2014); potrebbe al contrario favorire lo sviluppo di germogli più vigorosi e infetti che attraggono i vettori (Marucci *et al.*, 2004); l'utilizzo di pesticidi per diminuire la trasmissione del batterio da parte del vettore. Gli insetti vettori negli stadi immaturi vivono su piante erbacee (Tabella 2 in EFSA, 2015a), comportamento verificato anche per *P. spumarius* nelle zone olivicole pugliesi (Cornara e Porcelli, 2014). Il controllo delle infestanti, perciò, può ridurre le popolazioni dell'insetto vettore (Purcell, 1979, Purcell e Saunders, 1999). Come per la *Pierce's disease* della vite (Black e Kamas, 2007), la gestione del suolo può influenzare la composizione delle associazioni vegetali favorevoli a *Xylella* e ai suoi vettori, e influisce sulla praticabilità di azioni di abbattimento di olivi previste da norme nazionali ed europee. Il controllo riguarda anche piante ospiti del batterio, ornamentali o frequentatrici dei coltivi (poligala, oleandro, etc.), anche se non sintomatiche. Soluzioni efficaci e con un impatto ambientale ridotto per il contenimento della *Xylella* possono fare uso di fasce di vegetazione arborea di una specie non attaccabile da *Xylella* e dotata di caratteristiche allelopatiche. L'effetto allelopatico permetterebbe di evitare in maniera naturale la crescita di specie erbacee favorevoli al vettore.

Relativamente alla gestione agronomica e ambientale del caso *Xylella*, una espressa volontà di conoscere di più e di agire in base a risultati sicuri, e non solo a intuizioni e pregiudizi, è condizione non ritardabile. Il Gruppo linceo, al proposito, rileva che non sono stati condotti o addirittura programmati esperimenti di tipo agronomico, anche molto semplici, come è stato fatto specialmente in Brasile e in California (esempi in Della Colletta Filho, 2014; Almeida, 2016). Un esempio riguarda la valutazione dell'effetto dell'eliminazione delle piante ospiti, una misura accettata per contenere un patogeno ma di difficile definizione quando applicata a un nuovo caso di infezione da *Xylella*, situazione che richiederebbe una tempestiva verifica sperimentale (Nota 3). Le conseguenze di un ritardo nella produzione di protocolli agrotecnici operativi sono rilevanti: le perdite produttive possono essere elevate; gli aspetti negativi riguardano anche le attività derivate dall'agricoltura; l'impatto sul patrimonio culturale, storico, ricreativo del paesaggio è evidente; l'uso appropriato di insetticidi è difficile, accertati i loro effetti sulle catene trofiche (Bragard, 2016).

4. Il Piano operativo della Regione Puglia

Le decisioni della Commissione Europea che prescrivono le misure fitosanitarie per combattere i patogeni hanno come destinatari gli Stati membri. Pertanto, per essere esecutive, lo Stato italiano le attua tramite decreto ministeriale; successivamente, i Servizi fitosanitari, in base al territorio di rispettiva competenza, emettono ordinanze nei confronti dei soggetti interessati. A distanza di pochi giorni dalla notifica delle autorità italiane sulla presenza di *Xylella* nel Salento (21/10/2013), la Giunta Regionale della Puglia delibera un Piano di emergenza per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione del batterio *Xylella* ceppo CoDiRO (29/10/2013; a3). La rapidità con cui viene stilato il piano viene giustificata dal fatto che la diffusione del CoDiRO può compromettere lo sviluppo economico delle imprese agricole del Salento dove l'olivicoltura è molto importante (Nota 4). Già allora la diffusione del disseccamento degli olivi appare, agli estensori del Piano, progressiva nel territorio della provincia di Lecce.

Nel Piano, *Xylella* viene considerata il più importante agente del disseccamento. Poiché *Xylella* è un batterio da quarantena inserito nella lista A1 dell'EPPO (*European and Mediterranean Plant Protection Organization*) (Nota 5) considerato assente in Europa, l'art.16.1 della Dir 2000/29/CE impone l'adozione sul territorio nazionale di immediate misure di eradicazione o contenimento degli organismi da quarantena (a1). Si afferma, inoltre, che per *Xylella* non esistono metodi di lotta curativi per le piante infette, per cui è fondamentale attuare interventi preventivi per consentirne l'eradicazione o prevenirne la diffusione.

Nel Piano viene ritenuto necessario effettuare un capillare monitoraggio della provincia di Lecce, oltre ad ispezioni nelle altre provincie della Regione, al fine di definire:

- *la zona focolaio*: area o sito dove è stata accertata ufficialmente la presenza del patogeno e si può ritenere tecnicamente possibile la sua eradicazione;
- *la zona di insediamento*: area dove la diffusione dell'organismo nocivo rende impossibile la sua eradicazione, per cui vanno messe in atto azioni per il suo confinamento;
- *la zona tampone*: fascia perimetrale limitrofa alla zona focolaio o di insediamento, nella quale non è stata ancora riscontrata la presenza del patogeno;
- *la zona di sicurezza*: fascia perimetrale limitrofa alla zona tampone a ulteriore garanzia del contenimento del patogeno.

Viene avviata una attività di prelievo campioni e analisi da effettuare presso laboratori accreditati ai sensi dei DD.MM. 14/04/1997 e DM 09/08/2000, al fine di accertare la presenza di *Xylella* sia

nell'olivo che nelle specie che potrebbero essere ospiti del patogeno, incluse le specie spontanee. Si afferma la necessità di attivare programmi di ricerca per: svolgere approfondimenti su tutti gli agenti causali del CoDiRO; confermare la presenza di *Xylella* secondo quanto previsto dai protocolli ufficiali EPPO; determinare le correlazioni genetiche del ceppo batterico pugliese con le sottospecie di *Xylella* che causano malattie di altre piante; definire la patogenicità e la virulenza del/i ceppo/i di *Xylella* isolati da piante infette; definire l'epidemiologia del batterio verificando la sua trasmissione da parte degli insetti vettori; sviluppare tecniche di diagnosi di *Xylella*, sia per via molecolare che sierologica e completare gli elenchi delle piante ospiti; avviare il monitoraggio degli insetti vettori (Cicadellidi) presenti nell'areale e sottoporli a prove di trasmissione sperimentale; attivare ulteriori azioni di ricerca finalizzate a contrastare la diffusione del patogeno da quarantena.

Il Piano affronta così l'emergenza, sia nella gestione del territorio che nel rispondere alle richieste di informazione da parte della Commissione Europea, informazioni utilizzate per stabilire misure di emergenza più accurate contro la diffusione di *Xylella* in Europa (a7). Alla fine del 2014 viene pubblicato dalla Regione Puglia - Ufficio Osservatorio Fitosanitario - l'opuscolo dal titolo LINEE GUIDA PER IL CONTENIMENTO DELLA DIFFUSIONE DI "XYLELLA FASTIDIOSA" sottospecie *pauca* ceppo CoDiRO, che contiene le misure da utilizzare nel territorio del Salento (Nota 6).

Nell'opuscolo si afferma che: *Con il ritrovamento di molti altri focolai nelle diverse zone della provincia di Lecce risulta particolarmente complesso distinguere sul territorio i singoli focolai e le zone tampone di larghezza di 2 Km mantenendole distinte da quelle indenni. Pertanto, sulla base degli ultimi rilevamenti e analisi di laboratorio, è stata definita la strategia di contenimento delle infezioni di Xylella rappresentata cartograficamente nella figura.*

Le linee guida, mentre lasciano la libertà di scegliere se eliminare le piante contagiate da *Xylella* nella zona infetta, indicano la necessità di un'azione severa di eradicazione nella zona cuscinetto di 1 Km e negli eventuali focolai puntiformi in vicinanza della stessa ritenuti un rischio per la zona cuscinetto al fine di evitare l'avanzamento dell'infezione verso i territori indenni.



Lo stato di emergenza e il Piano Silletti

Il Ministero dell'Agricoltura, a settembre 2014, istituisce un Comitato tecnico-scientifico di supporto al Comitato fitosanitario nazionale per approfondire le problematiche tecnico-scientifiche dell'emergenza *Xylella*. Ne fanno parte, tra gli altri, Boscia, D'Onghia, Nigro, Porcelli, Saponari, Savino, Surico, e che si avvale della consulenza degli esperti Almeida e Purcell (a8). Il Consiglio dei Ministri delibera lo stato di emergenza (a12) e nomina Giuseppe Silletti a Commissario Delegato per fronteggiare la stessa (a13). Un mese dopo viene pubblicato il Piano degli interventi del Commissario Delegato (noto come *Piano Silletti*) che contiene, oltre alle misure fitosanitarie per la provincia di Lecce, un piano di monitoraggio nazionale, e la ripartizione delle risorse economiche necessarie (a18).

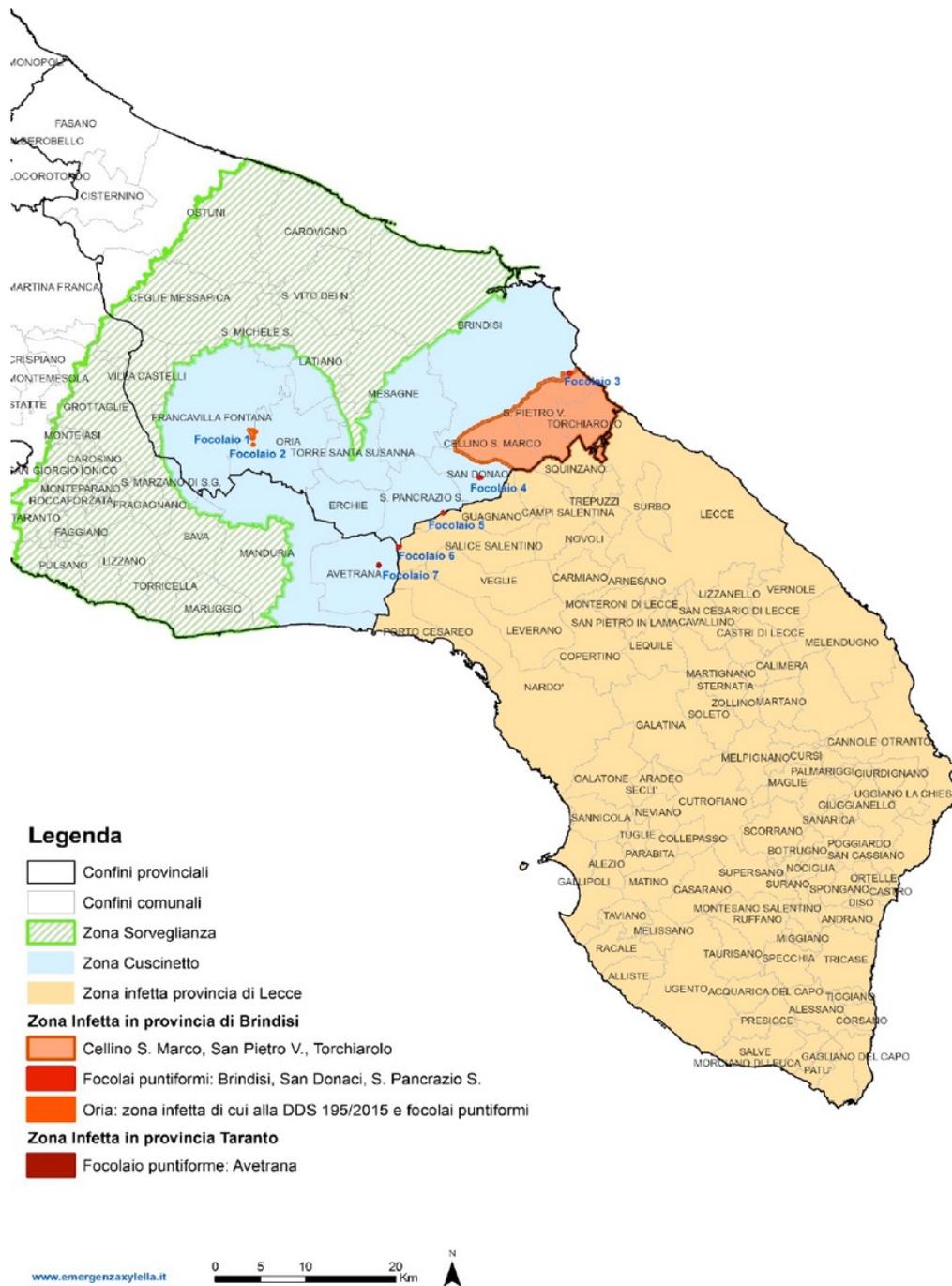
Gli obiettivi del piano sono di impedire che le infezioni si allarghino ulteriormente verso le altre provincie a nord di Lecce, dove sono presenti circa 5 volte più olivi che nel Salento (Nota 7), nonché di preservare quanto più possibile gli olivi monumentali, circa 6 milioni in tutta la Puglia, di

cui una parte significativa in provincia di Brindisi e nel Gargano. Viene, pertanto, ampliata la “zona infetta” estesa alla maggior parte della provincia di Lecce; viene individuata una nuova ed unica "zona cuscinetto" posta a nord della zona infetta e costituita da una fascia continua che taglia trasversalmente la penisola salentina dall'Adriatico allo Ionio, avente una larghezza di almeno 2 Km; viene definito un “cordone fitosanitario” a Nord della zona cuscinetto ad opportuna distanza dalla stessa, con larghezza di circa 2 Km, nella quale esercitare un'alta sorveglianza fitosanitaria, allo scopo di costituire una ulteriore barriera di sicurezza; infine, viene individuata una fascia di eradicazione a ridosso della zona cuscinetto di una larghezza di 1 Km nella quale devono essere eliminate tutte le piante infette (Nota 8).

Il Piano prevede l'eliminazione delle piante ospiti presenti lungo strade, fossi, canali, aree verdi (Misura A.1); il controllo dei vettori presenti su infestanti degli oliveti e frutteti (A.2); il trattamento per il controllo degli insetti vettori adulti (A.3); l'estirpazione delle piante infette (A.4); la distruzione delle piante ospiti di *Xylella* presenti nei vivai (A.5).

Una nuova decisione della Comunità Europea rivede i confini delle varie zone imponendo di allargare la zona cuscinetto a 10 km. Impone, inoltre, che nella zona di contenimento, entro un raggio di 100 m attorno alle piante risultate infette, vengano rimosse le piante ospiti, indipendentemente dal loro stato di salute, le piante infette e le piante che presentano sintomi indicativi della possibile infezione o sospettate di essere infette (a24).

Il Piano Silletti, che include le decisioni prese in Europa, viene presentato a luglio 2015 (a29). Prevede che venga riorganizzato il monitoraggio nelle zone cuscinetto e di contenimento site nell'area infetta, nella zona di sorveglianza e, in presenza di nuovi focolai, che vengano individuate e geo referenziate tutte le piante ospiti sintomatiche e asintomatiche nel raggio di 200 metri. Vengono definiti i nuovi confini della zona cuscinetto che viene spostata a nord, inglobando il focolaio di Oria, mentre viene dichiarata infetta la zona che comprende i comuni di Torchiarolo, S. Pietro V. e Cellino S. Marco, in provincia di Brindisi, come rappresentato cartograficamente nella figura.



Il piano degli interventi viene attuato attraverso stralci (Nota 9). Il primo riguarda il comune di Oria (BR). L'analisi degli olivi presenti in questo focolaio fa capire la complessità del problema e giustifica, forse, l'opposizione al piano di eradicazione. Infatti, delle 918 piante analizzate, ben 234 risultarono sintomatiche. Di queste solo 47 erano però positive per *Xylella*, ed altre 5 positive erano asintomatiche. Nell'incontro del Gruppo linceo con lo IAM di Bari (b19), è emerso i) che la bassa

incidenza a Oria di olivi asintomatici è stata citata dagli oppositori all'agente causale *Xylella* per negarne il ruolo nell'epidemia; e (ii) che, tuttavia, il dato di Oria, dove in prima istanza solo una parte delle piante sintomatiche risultava infetta da *Xylella*, è stato chiarito da un secondo campionamento dove il 100% di piante sintomatiche è risultato portatore del batterio. Questo dato è confermato anche dalle analisi di piante sintomatiche di altri comuni salentini (Nota 10). A Torchiarolo, primo comune sopra Lecce (20 Km a nord) dove è stata segnalata l'epidemia, due anni prima gli olivi positivi sintomatici erano assenti, mentre al momento la malattia è in forte diffusione.

Il Gruppo linceo condivide le certezze sul caso *Xylella* dei ricercatori baresi, su cui si basano le conclusioni dell'EFSA, poiché fondate su solida base scientifica. Il Gruppo linceo rileva, inoltre, che alcuni ricercatori che hanno contribuito a sostenere ipotesi alternative, a fronte di elementi scientifici certi emersi nell'ultimo anno, non hanno riveduto le loro posizioni e preso le distanze dai gruppi che le sostengono.

Recentemente la Regione Puglia ha provveduto a stilare un nuovo Piano (a46) contenente le nuove misure (Nota 11). Per l'eradicazione in nuovi focolai, le nuove linee guida recitano: *Nei nuovi focolai si ritiene necessario attuare tutte le misure di eradicazione del batterio Xylella previste dal DM 19/06/2015. Tuttavia, nelle more della pronuncia da parte della Corte di Giustizia Europea, in applicazione del D.Lgs 214/05, deve essere obbligatoriamente eseguita almeno la rimozione delle piante infette da parte dei proprietari/conduttori. Per la gestione dell'oliveto aggiungono: E' obbligatorio abbattere tempestivamente le piante accertate infette da X. fastidiosa. In presenza di olivi monumentali infetti, è obbligatorio intervenire ... con potatura straordinaria conservativa della struttura di pregio dell'albero ... nonché alla copertura della pianta potata con rete antinsetto. ... I polloni ed eventuale nuova vegetazione non protetta dalla rete dovranno essere continuamente eliminati. E' obbligatorio abbattere tempestivamente tutte le specie ospiti presenti nel raggio di 100 metri attorno alle piante accertate infette, ad eccezione delle piante di olivo.*

Le difficoltà di attuazione del Piano, per gli aspetti che riguardano l'eradicazione e l'utilizzo di fitofarmaci, dovuta anche all'opposizione di gruppi ambientalisti e di alcuni ricercatori, porteranno il Commissario a scrivere nel frontespizio del Piano di Interventi – II° stralcio (30/09/2015; Nota 12): *La Xylella si nutre e si sviluppa sulla incomprensione tra gli uomini.* La natura e l'origine di questa incomprensione è stata in parte già discussa. Se l'eziologia della malattia scema d'importanza come soggetto dialettico (nel Convegno del 18 maggio 2016 tenutosi a Lecce e dedicato alla *Xylella*, anche gli oppositori o i dubbiosi sull'agente causale *Xylella* hanno convenuto

che l'ipotesi dell'autunno 2013 era corretta, e hanno indicato, come soluzione per contenerla, l'uso di trattamenti antibatterici con un preparato a base di lattoperossidasi, composto per ora valutato solo *in vitro* e comunque difficile da veicolare fino ai vasi xilematici dell'olivo a contatto con il batterio), rimangono aperti molti altri fronti caldi. Per esempio, il Gruppo lincoo fa notare che le diverse versioni del Piano mentre sono precise nel definire le misure da adottare - anche perché condizionate dalle normative europee - dedicano poca attenzione a motivare, in base a dati certi desunti da verifiche sperimentali fatte nel territorio pugliese, la ragione dell'applicazione delle misure. E' vero che i dati sperimentali che possono essere di aiuto non sono disponibili; ma è proprio questo che si vuole sottolineare: non conosciamo se la potatura trasmette o riduce l'infezione; se gli erbicidi abbiano un ruolo; se l'irrigazione riduca i sintomi; se ci siano falde, da cui si derivi acqua irrigua, inquinate e da cosa; se le piante relativamente giovani resistano di più; se le temperature invernali abbiano un ruolo nel contenimento entro pianta della malattia; se lo stato di *stress* abbia un ruolo; se cure con antibatterici o a base di zinco o rame siano efficaci *in planta*; se altre varietà oltre al Leccino siano tolleranti all'infezione (si potrebbe continuare con molte altre domande). Il Gruppo lincoo, al proposito, reitera la sollecitazione di urgenti e semplici esperimenti agronomici relativi alle domande poste e ciò al fine di aiutare una migliore definizione di misure applicative per il contenimento dell'infezione, e, soprattutto, per contribuire a salvare gli olivi monumentali.

5. La verifica di scientificità di diverse ipotesi e posizioni sulle cause, sugli effetti e sulla diffusione della malattia, da *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*.

La verifica si basa su testimonianze di ricercatori, su note estratte dalla bibliografia disponibile e su dati pubblicati da riviste considerate dall'*Institute of Scientific Information*, ISI (citazioni analitiche sugli argomenti utilizzati nella verifica sono presenti negli allegati B, C, D, E, F).

- a) Nei convegni e corsi di Caserta e Valenzano del 2010 si è discusso specificamente di *Xylella*. Sono stati utilizzati ceppi di *Xylella* a fini di esercitazione che possono essere stati la causa della diffusione del batterio nel Salento; non esiste evidenza documentale che la sperimentazione sia avvenuta secondo le necessarie normative.
- b) *Xylella* non è l'unico agente eziologico del CoDiRO, gli altri fattori essendo infezioni fungine, di insetti e cattive pratiche agronomiche, le concause. Solo il 2% dei campioni analizzati (all'Aprile 2014) sono positivi per *Xylella*. Il postulato di Koch non è stato provato per il batterio. Ne consegue che la sua rilevanza causale nella malattia è bassa.
- c) *Xylella* è stata presente nel territorio da epoche precedenti, come dimostrato dagli essiccamenti notati nel 2009 e 2010 e dall'esistenza di numerosi ceppi del batterio.
- d) Esperienze precedenti in USA, Brasile, Taiwan mostrano come l'eradicazione delle piante infette non dia risultati positivi. E' quindi inutile estirparle.
- e) L'eventualità di una valutazione di impatto ambientale prima di applicare le misure di prevenzione contro il diffondersi della malattia. In particolare relative all'uso di insetticidi per controllare il vettore (*Philaenus spumarius* o sputacchina) e di diserbanti contro la vegetazione erbacea su cui il vettore cresce.

L'ipotesi **a)** è di difficile interpretazione. Dal punto di vista scientifico, l'interesse di agronomi e patologi per un batterio che ha condizionato l'agricoltura della California per 130 anni e si sta

allargando sia in Centro e Sud America che in paesi lontani (Taiwan), costituisce un'opera di prevenzione essenziale. L'ipotesi **a)** si contrappone all'ipotesi **b)** dove si afferma che *Xylella* sia solo una concausa “minore” del CoDiRO, mentre funghi, larve di insetti e cattive pratiche agronomiche sono più rilevanti, come viene preteso essere dimostrato dalla bassa incidenza (poi rivelatasi alta) dei campioni positivi per presenza di *Xylella* nelle piante campionate. La relazione causa-effetto può essere sostanziata sulla base di un'attenta analisi della co-distribuzione geografica di sintomi e cause. Lo scopo del campionamento di piante distribuite su tutto il territorio (dati analizzati all'aprile 2014) è stato di determinare l'area di infezione con un'analisi diffusa. I dati dimostrano che nella primavera del 2014 le piante infette erano relativamente poche e che l'infezione poteva (forse) essere contenuta: per contro, tutte le piante sintomatiche sono risultate positive per *Xylella*, un indizio forte che la causa fosse quella. Piante positive e asintomatiche, rilevate frequentemente, riflettono il lungo periodo di incubazione della malattia (6 mesi-1,5 anni) e, in quanto serbatoio per il patogeno, vanno soggette a misure come per le piante sintomatiche.

Simili considerazioni si applicano all'ipotesi **c)** dove si afferma che *Xylella* sia stata presente nel Salento in epoche anteriori al 2010. Questa ipotesi si basa su segnalazioni di “disseccamento”, un sintomo generico che può essere dovuto a molte cause. Non ci sono evidenze né analitiche né circostanziali che *Xylella* sia stata la causa di fenomeni di disseccamento precedenti al 2013. La conclusione che gli olivi convivano da lungo tempo con il batterio e soccombano solo in presenza di concause appare quindi infondata, ancorché in principio non escludibile, in mancanza di dati certi. Invece, è certa la circostanza che tutti gli isolamenti di *Xylella* all'analisi molecolare sono riconducibili a un identico genotipo: *Xylella fastidiosa*, sottospecie *pauca* e sequenza tipo ST53. La loro omogeneità molecolare sostiene l'origine della malattia da un'unica e recente fonte di infezione. Gli autori del recente articolo a firma Bleve *et al.* (2016), confermano i dati precedentemente pubblicati dai ricercatori dell'IPSP-CNR e dell'Università di Bari.

La diagnosi di xylellosi in California ha richiesto 130 anni, in Brasile 13 anni, a Taiwan 22 anni (punto **d)**. In Salento nel giro di due anni i ricercatori hanno identificato il batterio, i vettori del batterio e la sua possibile colonizzazione di più di 20 specie diverse di piante (gli ospiti certi dei batteri della specie *Xylella* sono 359 e appartengono a 75 famiglie botaniche), e ricostruito con metodi filogenetici la probabile provenienza del ceppo CoDiRO dal Centro America (Elbaino *et al.*, 2014a). Dopo le loro segnalazioni, focolai di specie e sottospecie del batterio sono stati individuati in altri paesi europei specialmente a seguito di controlli fatti in dogana su piante importate, di solito specie ornamentali. Di recente si è avuta conferma da parte dello stesso gruppo del postulato di

Koch con la riproduzione della malattia da isolati puri del batterio (EFSA, 2016b). Anche nel caso del CoDIRO, come per le altre malattie prodotte da *Xylella*, è necessario un lungo periodo di incubazione dopo inoculo. Questo avrebbe consigliato una considerazione maggiore da parte degli scettici sull'eziologia del CoDIRO provocata da *Xylella* del principio generale che “*la mancanza di evidenza non è l'evidenza della mancanza*”.

Il punto **d)** stimola, dunque, una considerazione particolarmente significativa: per la prima volta nella storia la diagnosi di xylellosi è stata fatta in tempi rapidissimi. Questo, insieme alla configurazione geografica del Salento, avrebbe permesso di circoscrivere il fenomeno prima della sua ulteriore diffusione al resto del paese. L'opportunità potrebbe essere vanificata dalla mancanza di interventi adeguati. Non è chiaro se la situazione sia recuperabile. E' ora anche noto che in data 12 maggio 2016 l'avvocato generale della Corte di Giustizia dell'Unione Europea Yves Bot, che assiste la Corte con il compito di presentare pareri giuridici in piena imparzialità e indipendenza, ha confermato la correttezza delle misure di prevenzione previste e la necessità di applicarle al più presto (anticipazione in www.ansa.it, 12 maggio 2016, poi confermata il 9 giugno 2016 con la pubblicazione della sentenza, a47). La posizione europea, quindi, è difforme rispetto ad analoghe iniziative locali (b6).

Quanto all'eventualità di una perizia di impatto ambientale dei trattamenti preventivi di cui al punto **e)**, la regione Puglia ha considerato (6 maggio 2016) che tale procedura non sia necessaria in casi di emergenza fitosanitaria (allegato A, regione Puglia, 12 maggio 2016).

Quali le conseguenze alla luce delle diverse ipotesi sul caso *Xylella*? Fino a questo momento è possibile che le conseguenze non siano gravissime. Ciò per le caratteristiche del ciclo di vita della sputacchina, l'insetto vettore della *Xylella*: le larve dell'insetto vivono su specie dicotiledoni erbacee (non infette) alla base degli alberi e si spostano sugli olivi nella fase adulta. Qui acquisiscono il batterio che poi propagano. Da maggio in poi si verificano nuove infezioni in quantità proporzionale al numero di adulti che si alimentano su piante infette. Diminuire il numero di insetti e di piante infette è, perciò, di importanza critica per contenere l'infezione. Un secondo motivo di urgenza riguarda la possibilità del verificarsi di infezioni multiple generate da ceppi diversi di *Xylella*. *Xylella* colonizza molte specie vegetali visitate dai vettori. Dopo la segnalazione di *Xylella* in Salento, in Europa sono stati individuati altri focolai di infezione indotti da ceppi anche di sottospecie diverse del batterio, ceppi ora frequentemente ritrovati su piante importate particolarmente dall'America centrale. E' il caso del ceppo *multiplex* oggi presente in Francia, in più

località corse e continentali. Più ceppi di *Xylella*, presenti nello stesso ospite, possono ricombinare i loro genomi formando ibridi (Nunney *et al.* 2014) che, in presenza di nuovi vettori e di specie vegetali non visitate prima dal batterio, potrebbero dare inizio a nuovi cicli di speciazione di *Xylella* in Europa, a cui potrebbe seguire un allargamento della patogenicità verso nuove specie. Fra le specie infettate da *Xylella* si annoverano molte piante ornamentali, forestali e frutticole, fra cui la vite. La prospettiva, in futuro, che un ceppo importato o un suo prodotto di ricombinazione possa riprodurre in Italia la malattia di Pierce non è remota ed evoca scenari di una Italia colpita non solo nell'olio di oliva ma anche nel vino: *Cercis siliquastrum* (l'albero di Giuda), che può, come altre specie vegetali spontanee note o ancora da scoprire, ospitare entrambe le sottospecie di *Xylella multiplex* e *fastidiosa*, è un sistema di incubazione del batterio permissivo per la formazione di ibridi, ed è anche un componente tipico della macchia mediterranea.

6. Cosa fare per contrastare la malattia e per rimuovere l'attuale stato di stallo?

Nei primi cinque capitoli di questo Rapporto, l'analisi del caso *Xylella*, condotta considerando diversi aspetti del problema, ha anticipato alcune possibili misure - essenzialmente agrotecniche e diagnostiche ma anche organizzative e sociali - che potrebbero contribuire almeno a contenere lo stato di incertezza operativa che avvolge la moria degli olivi pugliesi. La nostra valutazione di quanto è stato proposto per il contenimento e la cura della malattia, considera quattro angolazioni diverse.

Contenimento dell'infezione e gestione dell'oliveto dove il batterio è presente

Il Piano della Regione Puglia premette che per *Xylella* non esistono metodi di lotta curativi per le piante infette, per cui è fondamentale attuare interventi preventivi per consentire o l'eradicazione o la prevenzione della diffusione del batterio. Le misure che dovrebbero essere in atto nella zona infetta di Lecce includono i) trattamenti insetticidi contro i vettori; ii) interventi agrotecnici contro gli stadi giovanili del vettore e contro le erbe infestanti; iii) eliminazione delle piante ospiti presenti su strade, spartitraffico, fossi, canali, aree verdi; iv) monitoraggio della presenza di *Xylella* su piante ospiti (EFSA 2016d; Martelli, 2015a). Il Panel PLH (EFSA, 2015b) raccomanda anche di adottare strategie di prevenzione basate sul controllo delle piante prodotte nei vivai e utilizzate per nuovi impianti, e di combinare l'intervento in un approccio integrato: piante da trapianto prodotte in zone dove il batterio è assente, loro sorveglianza, certificazione e monitoraggio (per piante con dimensione ridotta, eventuale termoterapia o trattamenti antibatterici); ispezioni e trattamenti insetticidi. Nell'analisi critica delle possibili misure adottate o sospese o da adottare, può aiutare in senso comparativo quanto messo in atto in Paesi che da decenni si confrontano con il problema *Xylella*. Le Note 14 e 15 riassumono eventi e provvedimenti in atto in California e Brasile. Nei due Paesi le modalità di controllo del batterio non si discostano da quelle previste in Puglia, considerando, tuttavia, che nei due casi delle Americhe le eradicazioni locali dei ceppi responsabili di *Xylella* non sono state possibili. Questa è oggi la situazione anche nel sud della Puglia, conclusione che non deve però influenzare la decisione di abbattere piante infette nei casi di comparsa di nuovi foci nella zona di contenimento, pena la diffusione del batterio nel nord della Puglia (in zone in cui la concentrazione di olivi monumentali è anche più alta che nel Salento; Nota 4), in Europa e in tutto il bacino del Mediterraneo. La diffusione da focolai puntiformi è spiegabile

con la migrazione di piante ornamentali infette (poligala, almeno altre 15 ornamentali tra cui mirto, oleandro, lavanda, rosmarino e acacia). Anche in Corsica la presenza di focolai indipendenti di *Xylella* (sottospecie *multiplex*) è stata attribuita a piante ornamentali (b11, b12). Una misura importante è l'attenzione alla pulizia del terreno con le lavorazioni. Nelle condizioni di forte epidemia sono presenti in un ettaro da 250.000 a 500.000 insetti vettori, densità correlata con il livello dei sintomi notati sull'olivo (b15). Un trattamento di sarchiatura ritardata sarebbe utile e avrebbe un basso impatto ambientale. Essendo noto che le api non frequentano l'olivo, i migliori risultati per il controllo dell'insetto vettore sono stati conseguiti con formulati a base di insetticidi neonicotinoidi: acetamiprid e imidacloprid (Dongiovanni *et al.*, 2016a).

Evitare l'introduzione e, se già avvenuta, la diffusione in Europa di ceppi esotici di *Xylella* (come Hopkins e Purcell, 2002 definiscono i batteri potenzialmente patogeni per le specie vegetali presenti in aree geografiche ancora immuni), è strategicamente molto importante: come già ricordato, ceppi di sottospecie diverse del batterio presenti insieme nello stesso ospite con il quale non sono mai stati prima a contatto, possono formare ibridi ed iniziare un ciclo europeo di neospeciazione di *Xylella*.

Cura della pianta malata

E' da ritenere molto importante poter disporre di protocolli di cura degli oliveti infetti, per sperare di mantenere vivi i più di sei milioni di olivi monumentali della Puglia. L'argomento è stato specificamente analizzato dal Panel PLH (2016a) in base agli esperimenti sull'olivo di Scortichini e di Carlucci e Lops. Entrambi i gruppi ritengono che i loro dati necessitino di almeno un altro anno di conferma. In condizioni di campo vengono usate diverse concentrazioni di rame e zinco, mentre il ricorso a sostanze bioattive è allo stato sperimentale. I trattamenti, in combinazione con cure agronomiche adatte, si traducono in un maggior vigore vegetativo delle piante di olivo infette, ma entrambi i gruppi citati riportano che i loro esperimenti sono rivolti all'eliminazione dei sintomi e non dei batteri che persistono nella pianta anche dopo i trattamenti. Sebbene al momento non esistano cure in grado di eliminare il batterio dai tessuti, il Panel riconosce che questo approccio può prolungare la vita produttiva di piante infette.

In questo contesto si possono discutere più in generale ed eventualmente sperimentare metodi e molecole proposti contro le infezioni da batteri: i) antibiotici, ii) bio-attivatori delle resistenze endogene, iii) composti che stimolano la crescita della pianta, iv) antagonisti batterici e fungini, v) prodotti che inibiscano il trasporto dei batteri da parte degli insetti vettori. I trattamenti con antibiotici contro *Xylella* (il Panel PLH cita una lunga serie di pubblicazioni), non eliminano il

batterio. Per la xylellosi degli agrumi è stato studiato l'effetto di N-Acetylcisteina (NAC). Sopra la concentrazione di 1 mg/mL, il composto riduce la formazione di biofilm e di EPS, polisaccaridi extracellulari, e le piante di arancio mostrano una remissione dei sintomi associata a riduzione del titolo batterico. E' stata anche sviluppata una forma di concime a lento rilascio per applicare il composto NAC alle piante malate (Muranaka *et al.*, 2013; De Souza *et al.*, 2014). Anche il ricorso a ceppi attenuati del batterio che non causano l'insorgenza della malattia può ridurre l'effetto dei ceppi virulenti, un approccio, tuttavia, pericoloso perché è permissivo per l'origine di nuovi ceppi (Hopkins e Purcell, 2002).

L'alternanza della temperatura nelle diverse stagioni sembra aver ridotto in olivo la presenza del batterio inoculato. Lo stesso per oleandro e poligala (Saponari *et al.*, 2016). Anche Hill e Purcell (1995) segnalano in vite che la permanenza del batterio nella pianta può dipendere dal periodo di infezione: se l'infezione è estiva il tralcio può riprendersi durante l'inverno e tornare libero dal batterio nella successiva stagione, un risultato compatibile con quello del gruppo di Carlucci per il CoDiRO, che va ulteriormente verificato. Il Panel PLH chiude sull'argomento segnalando che sulla vite trattamenti simili a quelli valutati in Puglia non eliminano la malattia. Possono però proteggere la pianta da altri funghi; che *in vitro* alcuni dei composti citati sono efficaci ma mancano evidenze da trattamenti di piante intere in pieno campo. Zinco e antibiotici necessitano di continue iniezioni per metterli a contatto con il batterio (è l'obiezione già citata per il preparato a base di lattoperossidasi segnalato come risolutivo nell'incontro “*Xylella Roundtable* – Approccio integrato e sinergia fra università pugliesi, italiane e internazionali” del 18 marzo 2016); che per ora gli antibiotici antibatterici non sono permessi per trattamenti a vegetali in campo. Raccomanda, infine, di considerare l'effetto, potenzialmente anche nocivo, nel lungo periodo di trattamenti con rame e zinco ripetuti.

Necessità di ricerca.

Il Panel PLH dell'EFSA (2015b), ribadendo quanto già indicato nel Piano di intervento del 2013 della Regione Puglia (a3), raccomanda in generale di intensificare la ricerca sulle piante ospiti, sull'epidemiologia, sul controllo e confinamento locale del batterio. Di condurre analisi comparative di situazioni analoghe verificatesi in California, Brasile, Corsica, etc. I possibili contributi della ricerca dovrebbero interessare l'epidemiologia, la trasmissione del batterio, i controlli e, soprattutto, la genetica delle tolleranze e resistenze e le sue applicazioni alla costituzione di varietà in grado di convivere con il batterio. Questo è già emerso come punto di contrasto tra i ricercatori del settore ed

i gruppi ambientalisti che denunciano questo intervento come un “Cavallo di Troia” indirizzato a trasformare l’agricoltura dell’olivo del Salento da estensiva ad intensiva.

A causa del numero elevato di specie vegetali che *Xylella* infetta, al momento c’è grande incertezza su quali specie ospiti eliminare, al fine della loro inclusione nel piano di monitoraggio. Nel Piano della regione Puglia si prevedono ricerche essenzialmente sulla natura dell'agente causale e dei vettori, dimenticando tuttavia la necessità di conoscere di più anche le concause della diffusione dell'infezione.

Per quanto riguarda l'insetto vettore, sarebbero necessarie ricerche su fenologia, ecologia e preferenze di *P. spumarius* negli oliveti e nei vigneti (anche dove l'oliveto non è monocoltura); la tipizzazione delle popolazioni di *P. spumarius*; la risposta del vettore ai composti volatili della pianta; sull'uso degli insetticidi per le agricolture convenzionale e biologica; sulla trasmissibilità del batterio da parte del vettore; e sulla dinamica temporale dell'associazione pianta-ospite (Bosco, 2016; l'autore conclude: “*Few information at this time! A lot of research work is needed*”).

Interazione tra Istituzioni scientifiche e loro possibilità di recedere da posizioni non corrette sul caso

Sul caso *Xylella* esiste, fuori da ogni dubbio, una diversità di vedute tra gruppi di ricerca attivi da una parte all'Università, all'IPSP-CNR e allo IAMB di Bari, e dall'altra all'ISPA-CNR di Lecce e alle Università di Lecce, Matera e Foggia. La diversità di opinioni (esempio b27) necessiterebbe di una sintesi risolutiva per consentire un approccio unitario al problema (un esempio è l'incontro del 18 maggio 2016 intitolato “*Xylella Roundtable. Approccio integrato e sinergia fra università pugliesi, italiane e internazionali*”, del 18 marzo 2016, dove è stato accettato senza riserve il ruolo causale del ceppo *pauca* ST 53, sebbene in totale assenza dei ricercatori di Bari che l'eziologia della malattia hanno scoperto nel 2013). E' poi significativo osservare che di due laboratori del CNR quello di Lecce produca sequenze del ceppo batterico isolato da olivi ammalati, per ritrovarle al 100% identiche alle molte pubblicate dal laboratorio CNR di Bari. In questo Rapporto si è già rilevata una radicalizzazione del confronto e giova, in proposito, rammentare che in un suo rapporto l'EFSA (2015b) raccomanda di usare molto buon senso per evitare sul piano scientifico l'insorgere di contrapposizioni, se non in base a dati sicuri (b20). E' opportuno notare che le fonti di finanziamento per l'attività di ricerca sulla *Xylella* sono regionali, nazionali ed europee (Nota 15), mentre le prime indagini per determinare le cause del CoDiRO sono state affidate a laboratori accreditati e convenzionati con l'Osservatorio Fitosanitario della Regione Puglia (Nota 16).

Un altro aspetto della diversità di opinioni che si registra nel mondo scientifico pugliese è nel legame tra il Gruppo di ricerca LAIR (Law and Agroecology – Ius et Rus, nato all'interno dell'Università del Salento, e con cui collabora per gli aspetti scientifici sul caso *Xylella* il Prof. Luigi De Bellis, Direttore del Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali dell'Università di Lecce), e vari gruppi ambientalisti che operano in Puglia, tra cui anche il WWF. E' proprio De Bellis insieme a Massimo Monteduro (Prof. Associato di Diritto Amministrativo) che hanno coordinato uno studio interdisciplinare sul problema *Xylella* con ricercatori e studenti aderenti al LAIR, e che ha portato alla stesura del documento divulgativo “*Emergenza Xylella fastidiosa: perché l’obbligo di estirpazione di tutti gli olivi non infetti (privi di sintomi indicativi di possibile infezione e non sospetti di essere infetti) nel raggio di 100 metri da quelli infetti è una misura contestabile sul piano giuridico e scientifico*” (Nota 14). Alla luce del nuovo Piano di interventi della Regione Puglia (a46), occorrerebbe approfondire se si sia raggiunto un punto di incontro con gli estensori del documento citato.

Visti i risultati ottenuti, si deve comunque concludere che i fondi assegnati alle Istituzioni baresi sono stati utilizzati al meglio. Tuttavia, l'assegnazione da subito di contratti di ricerca per sperimentazioni di tipo agronomico da condurre in campo – suggerimento qui già espresso e decisioni a cui assegnare priorità - potrebbe contribuire a ricondurre la discussione su binari scientifici. Decisioni come questa, che non il solo Gruppo linceo suggerisce, possono contribuire a incentivare nuove collaborazioni e ad affrontare l'evenienza *Xylella* in base a conclusioni scientifiche condivise.

7. *Xylella* tra scienza e società civile

La Corte di giustizia europea ha confermato la validità delle misure di intervento che prevedono l'abbattimento degli olivi nella zona di contenimento intorno alle piante infette presenti nella zona cuscinetto, e in presenza di nuovi focolai. Questo intervento è anche indicato nelle nuove misure fitosanitarie della Regione Puglia (Nota 11). Si auspica che non perduri il sequestro degli olivi infetti, e che il MiPAAF e il governo italiano si adoperino di concerto con la Regione Puglia per tutelare il territorio e le produzioni italiane che si trovano a nord del Salento.

Quello citato è solo uno dei molti esempi, emersi dal caso *Xylella*, che si collocano problematicamente all'interfaccia tra scienza e Istituzioni che nell'insieme formano e regolano la società civile. Nella scienza come nella società il bisogno di verità esiste come componente non secondaria delle interazioni tra individui. E gli scienziati hanno una visione particolarmente forte della verità - un'affermazione scientifica che è stata sottoposta a un procedimento metodologico che l'ha convalidata con un certo grado di fiducia - non tollerando equivoci circa la sua realtà. Questa pretesa di verità deriva dalla loro capacità di far sì che materia ed energia facciano quello che essi si aspettano (Dawkins, 2003), in parte in antitesi alle culture del nostro tempo che derivano da secoli di discussioni filosofiche e storiche. Quando la scienza ha proposto la sua visione del tema, si sono create contrapposizioni tra scienziati ed umanisti (Sansavini, 2015). E' comunque un fatto che la scienza proponga certezze (seppure approssimate e migliorabili; Blackburn, 2011).

Abbiamo verificato che le certezze sul caso *Xylella* dei ricercatori baresi hanno una solida base scientifica. Purtroppo, il mondo sociale ha posizioni molto variegata sul caso. Una ipotesi, avanzata da gruppi ambientalisti in occasione della prima conferenza stampa in cui è stato dato l'annuncio dell'identificazione di *Xylella* come causa del CoDiRO (4 ottobre 2014), era che il ceppo batterico fosse fuoriuscito dai laboratori che lo avevano utilizzato in un corso di aggiornamento COST del 2010.

Ancora oggi l'ipotesi viene riportata (b31; b32), malgrado si sappia che nessun ceppo di *Xylella pauca* presente nelle banche di germoplasma ha la stessa sequenza del DNA del ceppo CoDiRO (Elbaino *et al.*, 2014a; Gianpetrucci *et al.*, 2015a; 2015b; Marcelletti e Scortichini, 2016). Abbiamo, in aggiunta, qualche volta notato un marcato scetticismo per quanto e cosa gli "scienziati" fanno. E' un atteggiamento che talora emerge dalle proposte di partiti e movimenti politici (Nota 19), spesso amplificate dai media, ma sorprende che siano condivise anche da docenti universitari, quasi che il loro allineamento a credi o vissuti sociali li esoneri da doveri deontologici. Il Gruppo linceo rileva

che alcuni ricercatori che hanno contribuito a sostenere ipotesi alternative, a fronte di elementi scientifici certi emersi nell'ultimo anno, non hanno riveduto le loro posizioni e preso le distanze dai gruppi che le sostengono.

8. Note

Nota 1. Un workshop COST della Comunità europea dedicato a patogeni di piante di grande coltura fu organizzato nel 2010 da alcuni fra i maggiori esperti internazionali, tra cui P.H. Janssen e R. Almeida (ricercatori con grande esperienza e pienamente consapevoli sia dell'importanza di contenere il batterio e non lasciarlo uscire dai laboratori, sia dei metodi di contenimento). Le esercitazioni pratiche vennero effettuate con l'uso di piantine di vite affette da *Pierce's disease* - causata da *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* - che furono distrutte alla fine del corso. E' prassi comune organizzare tali convegni in un contesto internazionale di grande circolazione delle merci, compresi i materiali vegetali. Altri convegni COST sono stati organizzati per prevenire l'insorgenza di epidemie con modalità del tutto simili, anche per le esercitazioni, a quelle adottate per il corso di Bari.

Nota 2. Il piano di contenimento varato dal Gen. G. Silletti, Commissario governativo in carico di gestire l'emergenza *Xylella*, prevedeva la considerazione di quattro zone: infezione, eradicazione, *buffer*, prevenzione ed elencava le misure da mettere in atto in ciascuna zona.

Nota 3. A livello internazionale il tema è largamente trattato. Si consultino i lavori di Mumford, 2006; Thomson, 2006; Sosnowski *et al.*, 2009; Belasque *et al.*, 2010; de Boer and Boucher, 2011; Filipe *et al.*, 2012; Gordillo *et al.*, 2012; Palacio-Bielsa *et al.*, 2012; Sosnowski *et al.*, 2012; Bennett *et al.*, 2013; Su *et al.*, 2013; Behlau *et al.*, 2014; Cunniffe *et al.*, 2014 and 2015; Gottwald and Graham, 2014; MacMaster *et al.*, 2015; NTG, 2015; Rimbaud *et al.*, 2015, le cui citazioni bibliografiche complete sono riportate in EFSA (2016d).

Nota 4. Patrimonio olivicolo in Puglia per classi di età (numero di piante)

Regione	Provincia	n. piante TOTALI	di cui			
			n. piante > 30 anni	n. piante < 30 anni	n. piante > 100 anni	n. piante < 100 anni
		(a)	(b)	(c = a - b)	(d)	(e = a - d)
Puglia	Bari	22.722.772	17.335.469	5.387.303	8.806.526	13.916.246
	Lecce	12.581.940	10.781.915	1.800.025	2.899.839	9.682.101
	Foggia	9.242.093	7.438.501	1.803.592	2.047.359	7.194.734
	Brindisi	7.891.935	5.405.353	2.486.582	2.225.116	5.666.819
	Taranto	5.667.873	5.202.558	465.315	1.009.723	4.658.150
TOTALE PUGLIA		58.106.613	46.163.796	11.942.817	16.988.561	41.118.052
% Puglia =100		100,0	79,4	20,6	29,2	70,8
TOTALE ITALIA		199.363.842	146.977.334	52.386.508	43.070.283	156.293.559
% ITA =100		100,0	73,7	26,3	21,6	78,4
% Puglia /ITA		29,1	31,4	22,8	39,4	26,3

Fonte: SIAN (2013)

Nota 5. Elenco dei parassiti consigliati per la regolamentazione come organismi nocivi da quarantena
<https://www.eppo.int/QUARANTINE/listA1.htm>

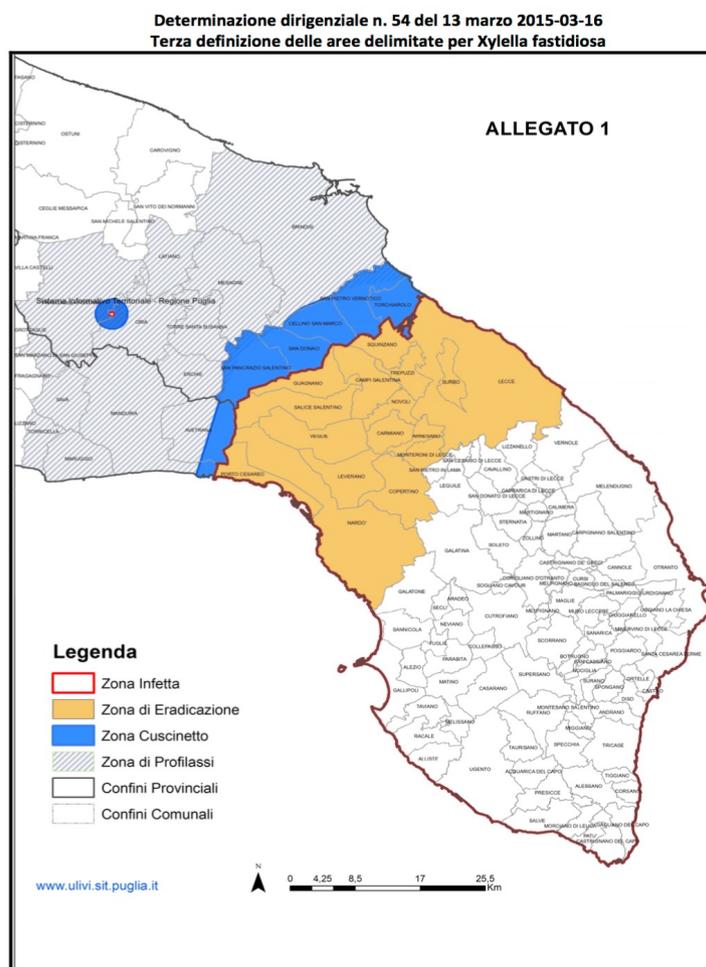
Nota 6. Linee Guida 2014

http://cartografia.sit.puglia.it/doc/LINEEGUIDA_XYLELLAE_CoDiRO.pdf

Nota 7.

http://cartografia.sit.puglia.it/doc/Piano_operativo_Xylella_approvato_18_03_2015.pdf

Nota 8. Definizione delle aree delimitate per la *Xylella* (13/03/2015)



Nota 9. Attuazione del Piano di intervento 2015

Primo stralcio del Piano Silletti:

http://www.sit.puglia.it/portal/portale_gestione_agricoltura/Documenti/docCommissario/PortalXylellaDocCommissarioIstanceWindow?IDNEWS=70&action=e&windowstate=normal&mode=view&ACTION_NEWS=DETAIL

Secondo stralcio del Piano Silletti:

http://www.sit.puglia.it/portal/portale_gestione_agricoltura/Documenti/docCommissario/PortalXylellaDocCommissarioIstanceWindow?IDNEWS=78&action=e&windowstate=normal&mode=view&ACTION_NEWS=DETAIL

Nota 10. Dati analitici della presenza di *Xylella* in Puglia

La documentazione ufficiale relativa alle analisi compiute dallo IAM nel 2015 è disponibile presso:

http://www.emergenzaxylella.it/portal/portale_gestione_agricoltura/Elenchi/risultati

Nota 11. Misure fitosanitarie da attuare per il contenimento della diffusione di *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* ceppo CoDiRO. Anno 2016.

http://www.regione.puglia.it/index.php?page=delibere&id=16993&opz=downfile&fs_id=21749

Nota 12. In Brasile la malattia nota come CVC, *Citrus Variegated Chlorosis*, è affrontata anche con l'eliminazione di piante infette. Malgrado questo, l'epidemia è aumentata. Si consideri però che gli interventi sono stati messi in atto quando la malattia era già ben stabilita, a sostegno della conclusione che l'eradicazione del batterio è possibile solo nei primissimi stadi dell'epidemia. Gli interventi in atto includono il controllo obbligatorio di tutte le fasi vivaistiche da condurre in assenza di vettori in *screenhouses*, la selezione delle piante madri per la riproduzione, la riduzione dei vettori e dell'inoculo, il miglioramento genetico anche con procedure cisgeniche. Sono già disponibili varietà di arancio resistenti all'infezione (Della Colletta-Filho, 2014; De Souza *et al.*, 2014). La potatura è risultata efficace (do Amaral *et al.*, 1994), ma è stata rigorosamente adottata all'inizio dell'infezione e integrata dalle altre misure di contenimento. Una misura importante è stata l'intensità del monitoraggio che rivela gli stadi molto precoci dello sviluppo dell'infezione.

Nota 13. In California vengono investiti 104 milioni di dollari l'anno per il controllo della malattia di Pearce. Nello Stato, la regione di Temecula ebbe il 40% di viti infette; la risposta di Temecula fu di sostituire la maggior parte delle viti ammalate, di rimuovere la sorgente di inoculo controllando il vettore anche nelle coltivazioni di agrumi, ospiti preferiti del vettore. I sintomi della malattia diventano più severi sotto *stress* da siccità, potatura radicale delle radici, altre malattie, superproduzione, stato di senescenza. Se ne deduce che le buone pratiche colturali sono efficaci nel ridurre i sintomi. Gli interventi in atto riguardano il contenimento, la sorveglianza, le risposte rapide, la pubblicizzazione, la ricerca, il controllo biologico. Nella stagione con picco del vettore, vengono attivate 38.000 trappole poste nei vivai e nelle aree urbane (Almeida, 2016). La soluzione al problema è stata la coltivazione di viti resistenti (Hopkins e Purcell, 2002).

Nota 14.

Monteduro M. – De Bellis L. – Brocca M. – Buongiorno P. – Di Benedetto S. – Isoni A. – Luchena S.S. – Pierri M. – Tommasi S. – Troisi M. – Denuzzo A. – Buia G. – Greco R.F. – Gusmai A. – Quarta D. – Stradiotti S. – Tascagni V., Emergenza *Xylella fastidiosa*: perché l'obbligo di estirpazione di tutti gli olivi non infetti (privi di sintomi indicativi di possibile infezione e non sospetti di essere infetti) nel raggio di 100 metri da quelli infetti è una misura contestabile sul piano giuridico e scientifico, Documento di ricerca (versione semplificata per la comunicazione al pubblico), 12 novembre 2015.

Il documento si compone di 2 parti, la prima che tratta di aspetti giuridici, la seconda (elaborata da De Bellis), degli aspetti scientifici. Questi sono trattati in 2 capitoli: 1. Incongruenze nella traduzione della Decisione di esecuzione della Commissione 2015/789/UE nelle diverse lingue dell'Unione; 2. Elementi illogici e contestabili presenti nel Nuovo Piano Silletti, Decisione di Esecuzione 2015/789/UE e DM 19 giugno 2015.

https://www.scienze giuridiche.unisalento.it/c/document_library/get_file?uuid=e6554e67-f46f-46ef-b98c-7ea53ec76999&groupId=10122

Nota 15. Fondi per attività di ricerca sulla *Xylella*.

La UE ha finanziato il progetto POnTE coordinato dall'IPSP-CNR di Bari che vede la partecipazione di 25 *partner*, tra Istituti di Ricerca e piccole e medie imprese di settore, coinvolgendo 13 diversi Stati, europei ed extra-europei. L'attività di ricerca, finanziata per un importo complessivo di 6,8M€, è incentrata su importanti patogeni, tra cui la *Xylella* (a35). La UE ha reso disponibili ulteriori 7M€ per ricerche sulla *Xylella* attraverso un bando scaduto il 17/02/2016.

<http://ec.europa.eu/research/participants/portal/desktop/en/opportunities/h2020/topics/6071-sfs-09-2016.html>

Il MiPAAF ha destinato 4M€ per attività di ricerca coordinate dal CREA

http://www.crea.gov.it/wp-content/uploads/2015/08/emergenza_xylella_ministro_Martina.pdf

La Regione Puglia ad ottobre 2015 ha pubblicato 3 bandi per progetti di prevenzione e contenimento del complesso del disseccamento rapido dell'olivo, finanziati per un importo complessivo di 2M€.

http://www.regione.puglia.it/index.php?at_id=1&te_id=82&page=curp&opz=display&id=9810 .

Ulteriori 5M€ dovrebbero essere disponibili nel 2016.

Nota 16. Delibera di affidamento da parte della Giunta Regionale a CRSA, DIBCA, IAMB

per (i) attività di monitoraggio sul territorio degli organismi nocivi da quarantena e oggetto di lotta obbligatoria; (ii) studio delle malattie delle principali colture nell'ambito regionale e messa a punto e divulgazione di metodi di controllo; (iii) controllo dei vegetali e prodotti vegetali, in particolare del materiale di propagazione vegetale.

Questa attività sarà poi estesa a dicembre 2013 alla rete SELGE coordinata dall'Università di Bari, di cui fanno parte anche i laboratori delle università di Foggia e Lecce.

<http://www.selge.uniba.it/content/accreditamento-dei-laboratori-di-diagnosi-fitosanitaria-della-rete-selge-da-parte-del>

In particolare, l'unità di Lecce all'interno del SELGE partecipa per attività di identificazione varietale.

https://www.disteba.unisalento.it/c/document_library/get_file?uuid=72561cdb-1c18-4843-8387-707b1eb0b914&groupId=6046092.

ALLEGATI

- Allegato A. Cronologia degli eventi nello sviluppo del caso *Xylella*, comprensiva di un elenco delle normative regionali, nazionali e internazionali che regolano simili situazioni. Azioni attivate da MiPAAF, Regione Puglia e EU.**
- Allegato B. Calendario delle visite e dei colloqui. Note da visite e colloqui con tecnici e ricercatori.**
- Allegato C. Epidemia *Xylella* in Puglia: analisi genomica e origine del contagio**
- Allegato D. Note estratte dalla bibliografia.**
- Allegato E. Note da documenti dell'European Food Safety Authority (EFSA).**
- Allegato F. Bibliografia.**

Allegato A. Cronologia degli eventi nello sviluppo del caso *Xylella*, comprensiva di un elenco delle normative regionali, nazionali e internazionali che regolano simili situazioni. Azioni attivate da MiPAAF, Regione Puglia e EU.

Dal 1992

(a1). *Xylella fastidiosa* è regolata a livello EU come organismo soggetto a quarantena (Direttiva 2000/29/EC); http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/ph_ps/harm/legal/dir00_29_it.pdf

2013

(a2). 21 ottobre 2013. Le autorità italiane notificano la prima epidemia confermata di *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* (ceppo CoDiRO) nella regione Puglia sugli alberi di olivo.

(a3). 22 novembre 2013. Vengono pubblicate le misure di emergenza per la prevenzione, il controllo e la eradicazione del batterio da quarantena *Xylella fastidiosa* associato al CoDiRo, che prevedono sia l'estirpazione di piante infette nelle zone focolaio, sia trattamenti insetticidi delle piante ospiti, sia pratiche per limitare la diffusione dell'infezione (Deliberazione della Giunta Regionale del 29 ottobre 2013, n. 2023). http://www.sit.puglia.it/portal/portale_gestione_agricoltura/Documenti/normRegionale/PortalXylellaNormativaRegionaleIstanceWindowIDNEWS=58&action=e&windowstate=normal&mode=view&ACTION_NEWS=DETAIL

(a4). 26 novembre 2013. EFSA pubblica un documento sulle piante ospiti, le vie di entrata e diffusione e le opzioni di riduzione del rischio per la *Xylella fastidiosa* (Wells *et al.*). <https://www.efsa.europa.eu/it/efsajournal/pub/3468>

2014

(a5). 13 febbraio 2014. La Commissione Europea adotta le prime misure di emergenza per prevenire la diffusione di *Xylella* all'interno dell'EU (Decisione 2014/87/EU).

<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/HTML/?uri=CELEX:32014D0087&from=IT>

(a6). Dal 10 al 14 febbraio 2014 viene svolto dall'Ufficio Alimenti e Veterinaria (Food and Veterinary Office FVO) un audit per valutare la situazione e i controlli ufficiali in loco per la *Xylella*, confermando la rapida diffusione del batterio nella provincia di Lecce.

(a7). 23 luglio 2014. La Commissione adotta misure di emergenza più accurate per prevenire la diffusione di *Xylella* all'interno dell'EU (Decisione 2014/497/EU);

<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/HTML/?uri=CELEX:32014D0497&from=IT>

(a8). 12 settembre 2014. E' istituito il Comitato tecnico scientifico da parte del MiPAAF a supporto del comitato fitosanitario nazionale per approfondire le problematiche tecnico-scientifiche all'emergenza *Xylella*. Ne fanno parte, tra gli altri, Boscia, D'Onghia, Nigro, Porcelli, Saponari, Savino, Surico, e si avvale della consulenza di Almeida e Purcell.

<https://www.politicheagricole.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/9262>

(a9). Dal 18 al 25 novembre 2014 viene svolto dal FVO un secondo audit che conferma il drammatico deterioramento della situazione rispetto a quanto rilevato in febbraio 2014.

2015

(a10). 6 gennaio 2015. EFSA pubblica una valutazione completa del rischio fitosanitario per la salute delle piante infettate da *Xylella fastidiosa* nel territorio dell'UE, con l'identificazione e la valutazione delle opzioni di riduzione del rischio.

<https://www.efsa.europa.eu/it/efsajournal/pub/3989>

(a11). 10 febbraio 2015. La Commissione organizza una riunione di rappresentanti degli Stati membri, al fine di costituire un gruppo di esperti tecnici e normativi per la revisione delle misure di emergenza dell'UE.

- (a12).** 10 febbraio 2015. Il Consiglio dei Ministri italiano dichiara lo stato di emergenza in conseguenza della diffusione nel territorio della Regione Puglia del batterio patogeno da quarantena *Xylella fastidiosa* (GU n. 42 del 20/2/2015)
http://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2015/02/20/15A01161/sg;jsessionid=DSgBQrf5H4tL+d3rGPdU5Q__n tc-as1-guri2a
- (a13).** 11 febbraio 2015. Viene nominato Commissario Delegato per l'emergenza *Xylella* Giuseppe Silletti, Comandante regionale del Corpo Forestale dello Stato per la Regione Puglia, con ordinanza n. 225 del 11 febbraio 2015 del Dipartimento della Protezione Civile-Presidenza.
http://www.protezionecivile.gov.it/jcms/it/view_prov.wp?contentId=LEG50783
- (a14).** 25 febbraio 2015. La Commissione organizza una riunione ad alto livello con il Capo del Servizio Fitosanitario delle autorità italiane per discutere i recenti sviluppi del caso *Xylella fastidiosa* in Puglia e delle azioni previste.
- (a15).** 9 marzo 2015. Le autorità italiane notificano alla Commissione nuovi focolai nella parte settentrionale della provincia di Lecce, e un nuovo focolaio nel comune di Oria, nella vicina provincia di Brindisi, al di fuori della zona delimitata di Lecce.
- (a16).** 11 marzo 2015. La Commissione organizza una riunione ad alto livello con il Rappresentante Permanente d'Italia presso l'Unione europea per discutere i recenti sviluppi in Puglia e le azioni previste.
- (a17).** 16 marzo 2015. La Commissione presenta l'avanzamento di *Xylella fastidiosa* nel territorio dell'UE al Consiglio AGRIFISH.
- (a18).** 16/17 marzo 2015. Piano degli interventi del Commissario Delegato. Misure fitosanitarie per il controllo di *Xylella* nella zona infetta della Provincia di Lecce.
http://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2015/04/03/15A02500/sg;jsessionid=ugdgDE6QRqy1VFQXyGsKA__ ntc-as2-guri2a
- (a19).** 20 marzo 2015. EFSA pubblica una categorizzazione di vegetali destinati alla coltivazione, escluse le sementi, a seconda del rischio di introduzione di *Xylella fastidiosa*;
<http://www.efsa.europa.eu/it/efsajournal/pub/4061>
- (a20).** 27 marzo 2015. La Commissione presenta al Comitato permanente i risultati della valutazione annuale di tutti gli Stati membri sulla presenza di *Xylella fastidiosa* nel territorio dell'UE.
- (a21).** 17 aprile 2015. EFSA pubblica una dichiarazione in risposta a informazioni scientifiche e tecniche fornite che sostengono che *Xylella* non è la causa del declino dell'olivo nella provincia di Lecce nel sud Italia, ma solo un elemento endogeno presente negli alberi né attivo né aggressivo, a meno che una serie di funghi infettino le piante e creino le condizioni per lo sviluppo di *Xylella fastidiosa*.
<https://www.efsa.europa.eu/it/efsajournal/pub/4082>
- (a22).** 23 aprile 2015. La Commissione organizza una riunione ad alto livello con il Commissario Delegato nominato dalle autorità italiane per il caso *Xylella*, con l'obiettivo di discutere gli sviluppi del focolaio e le azioni previste.
- (a23).** 30 aprile 2015. La Commissione risponde nella riunione plenaria del Parlamento europeo ad un'interrogazione orale sulla *Xylella fastidiosa* richiesta dal COMAGRI (Commissione agricoltura e sviluppo rurale).
- (a24).** 18 maggio 2015. La Commissione adotta le misure per prevenire l'ulteriore introduzione e la diffusione all'interno del territorio dell'UE di *Xylella fastidiosa* (decisione 789/2015 / UE); viene prevista una diversa delimitazione della Zona Cuscinetto e della Zona Infetta, la creazione di una Zona di Sorveglianza, nuove misure di Contenimento e la possibilità di adottare specifiche misure di contenimento per la Zona Infetta della provincia di Lecce, dove non è più possibile eradicare *Xylella*.
<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/HTML/?uri=CELEX:32015D0789&from=IT>
- (a25).** 20 maggio 2015. Il Parlamento europeo adotta una risoluzione sulla epidemia di *Xylella fastidiosa* che colpisce gli olivi.
- (a26).** Dall'8 al 19 giugno 2015 viene effettuato un terzo audit dal FVO in Italia , in particolare nelle regioni Liguria, Toscana, e Puglia.

(a27). 1 giugno 2015. Ridefinizione e aggiornamento delle aree delimitate per *Xylella* (Determinazione del Dirigente del Servizio Agricoltura del 1° giugno 2015, n. 195).

www.regione.puglia.it/web/files/agricoltura/xilelladelimitazionearee.pdf

(a28). 29 giugno 2015. Viene pubblicato un decreto contenente le misure fitosanitarie per prevenire e contenere la diffusione dell'organismo nocivo *Xylella fastidiosa* nel territorio italiano (Decreto 19 giugno 2015, GU n.148 del 29/6/2015).

<http://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2015/06/29/15A05031/sg>

(a29). 6 luglio 2015. Viene pubblicata la relazione sulle misure di contrasto alla *Xylella fastidiosa* in Italia. Sulla base dei risultati ottenuti a seguito di 33.600 ispezioni, si dichiara che l'intero territorio italiano è indenne da *Xylella*, ad eccezione delle aree delimitate delle Province di Lecce e Brindisi.

<https://www.politicheagricole.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/8869>

(a30). 19/20 luglio 2015. Vytenis Andriukaitis, Commissario europeo per la salute e la sicurezza alimentare, visita l'area interessata dall'epidemia in Puglia.

(a31). 27 luglio 2015. Le autorità francesi notificano alla Commissione il primo focolaio di *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* in Corsica, su piante di *Polygala myrtifolia*.

https://www.eppo.int/QUARANTINE/special_topics/Xylella_fastidiosa/Xylella_fastidiosa.htm

(a32). 2 settembre 2015. EFSA pubblica un parere scientifico sul trattamento con acqua calda di piantine di vite contro *Xylella fastidiosa*.

<http://www.efsa.europa.eu/it/efsajournal/pub/4225>

(a33). 18 settembre 2015. Le autorità francesi notificano alla Commissione il primo focolaio di *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* in Francia, nella regione della Provenza-Alpi- Costa Azzurra.

https://www.eppo.int/QUARANTINE/special_topics/Xylella_fastidiosa/Xylella_fastidiosa.htm

(a34). 14 ottobre 2015. Viene pubblicato un bando di ricerca specifico per *Xylella fastidiosa* nell'ambito del programma di lavoro 2016/2017 di Horizon 2020, bando che mira a promuovere un pacchetto completo di attività per aumentare la conoscenza del batterio e sviluppare opzioni per la prevenzione e il controllo, insieme a strumenti per la valutazione del rischio e politiche per la salute delle piante.

(a35). 1° novembre 2015. Viene finanziato dalla Commissione un progetto europeo dal titolo *Pest Organisms Threatening Europe* (POnTE) che affronta, tra gli altri parassiti, lo studio di *Xylella fastidiosa*.

<http://www.ponteproject.eu>

(a36). Dal 9 al 20 novembre 2015 viene svolto il quarto *audit* del FVO in Sicilia e Puglia. Il rapporto ufficiale non è ancora disponibile.

(a37). 12/13 novembre 2015. EFSA, in collaborazione con la Commissione, organizza un seminario a Bruxelles con gli scienziati dell'UE e dei Paesi terzi al fine di colmare le lacune di conoscenza e definire le priorità di ricerca per l'UE su *Xylella fastidiosa*.

(a38). 19 novembre 2015. EFSA pubblica un parere scientifico concludendo che si può escludere, in questo momento, che la vite sia una pianta ospite potenziale per il ceppo pugliese (CoDiRO) di *Xylella fastidiosa*; gli esperti hanno osservato che, sebbene le indagini sul campo siano negative, non sono disponibili informazioni sulle popolazioni di vettori infettivi presenti nei vigneti; sugli esperimenti d'inoculo hanno posto questioni sullo scarso numero di viti utilizzate, sul rigore della procedura d'inoculazione e sull'uso di un'unica varietà di vite.

<http://www.efsa.europa.eu/it/efsajournal/pub/4314>

(a39). 23 novembre 2015. Gli Stati membri approvano ulteriori misure, proposte dalla Commissione, contro *Xylella fastidiosa*. L'audizione della Commissione avviene il 17 dicembre 2015.

(a40). 16/17 dicembre 2015. Gli Stati membri approvano le direttive CEE, proposte dalla Commissione, che mirano a rafforzare il coordinamento e l'armonizzazione di programmi di indagine su *Xylella fastidiosa* da effettuare negli Stati membri nel 2016.

2016

(a41). 9 febbraio 2016. EFSA pubblica la banca dati aggiornata delle piante ospiti per *Xylella* che include 44 nuove specie. La maggior parte delle nuove specie (il 70%) è individuata nel Sud Italia (Puglia), in Corsica e nella Francia del Sud (regione Provenza-Alpi-Costa Azzurra).

<http://www.efsa.europa.eu/it/efsajournal/pub/4378>

(a42). 26 febbraio 2016. Modifica del decreto 19 giugno 2015, recante misure di emergenza per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di *Xylella fastidiosa* nel territorio italiano (Decreto 18 febbraio 2016, GU n.47, 26/2/2016)

http://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2016/02/26/16A01688/sg;jsessionid=dF3yNiMW92I3P-RUENg6gg__ntc-as5-guri2b

(a43). 29 marzo 2016. EFSA pubblica i risultati di un lavoro commissionato all'IPSP-CNR che conferma che *Xylella fastidiosa* è responsabile della malattia che sta distruggendo gli olivi nell'Italia meridionale. Anche l'oleandro, il rosmarino e la poligala a foglia di mirto sono molto sensibili al ceppo pugliese del batterio, mentre gli agrumi, la vite e il leccio sembrano immuni.

<https://www.efsa.europa.eu/it/press/news/160329>

(a44). 31 marzo 2016 . EFSA pubblica il parere scientifico del Panel PLH su quattro asserzioni che mettono in discussione la strategia di controllo dell'UE contro *Xylella*.

<http://www.efsa.europa.eu/it/efsajournal/pub/4450>

(a45). 20 aprile 2016. EFSA pubblica il parere scientifico del Panel PLH sull'efficacia di alcuni trattamenti contro *Xylella fastidiosa*.

<https://www.efsa.europa.eu/it/press/news/160420>

(a46). 8 aprile 2016. La Regione Puglia pubblica un nuovo piano con le misure fitosanitarie da attuare per il contenimento della diffusione di *Xylella fastidiosa* sottospecie *pauca* ceppo CoDiRO

<http://cartografia.sit.puglia.it/doc/xylella/DGR%20n.459%20del%2008-04-2016.pdf>

(a47). 9 giugno 2016. Viene pubblicata la sentenza della Corte di Giustizia Europea che ha respinto definitivamente i ricorsi presentati al TAR del Lazio come opposizione ai decreti di abbattimento di tutte le piante ospiti in un raggio di 100 metri attorno alle piante infette dal batterio da quarantena.

La sentenza conclude:

L'esame delle questioni sollevate non ha rivelato alcun elemento idoneo ad inficiare la validità dell'articolo 6, paragrafo 2, lettera a), della decisione di esecuzione (UE) 2015/789 della Commissione, del 18 maggio 2015, relativa alle misure per impedire l'introduzione e la diffusione nell'Unione della Xylella fastidiosa (Wells et al.), in rapporto alla direttiva 2000/29/CE del Consiglio, dell'8 maggio 2000, concernente le misure di protezione contro l'introduzione nella Comunità di organismi nocivi ai vegetali o ai prodotti vegetali e contro la loro diffusione nella Comunità, come modificata dalla direttiva 2002/89/CE del Consiglio, del 28 novembre 2002, letta alla luce dei principi di precauzione e di proporzionalità, nonché in rapporto all'obbligo di motivazione previsto dall'articolo 296 TFUE e dall'articolo 41 della Carta dei diritti fondamentali dell'Unione europea.

<http://curia.europa.eu/juris/celex.jsf?celex=62016CJ0078&lang1=en&lang2=FR&type=TXT&ancre=>

Allegato B. Calendario delle visite e dei colloqui. Note da visite e colloqui con tecnici e ricercatori.

Calendario

22/03/2016 mattina; Area di ricerca di Bari

Giovanni Martelli. Linceo. Ordinario, Unibari, Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti (Di.S.S.P.A.). Via Amendola, 165/A 70126 Bari. Associato all' Ist. Per la Protezione Sostenibile delle Piante (IPSP).

Donato Boscia. Ricercatore. Ist. per la Protezione Sostenibile delle Piante (IPSP) CNR. Responsabile della Sede Secondaria di Bari. +39 0805443067 donato.boscia@ipsp.cnr.it

Francesco Porcelli. Ordinario, Unibari, Di.S.S.P.A. +39 080 5442880 Fax +39 080 5442880. +39 329 8112593. francesco.porcelli@agr.uniba.it

22/03/2016 pomeriggio; Istituto Agronomico Mediterraneo di Bari (IAMB)

Cosimo Lacirignola. Direttore IAMB. Via Ceglie, 9, 70010 Valenzano (BA). +39 080 4606207. 4606209. 4606111 Fax +39 080 4606206. iamdir@iamb.it

Maurizio Raeli. Direttore aggiunto IAMB. raeli@iamb.it

Michele Digiario. Ricercatore IAMB. digiario@iamb.it

Anna Maria D'Onghia. Ricercatore IAMB. donghia@iamb.it

Franco Valentini. Ricercatore IAMB. valentini@iamb.it

Vincenzo Verrastro. Agronomo IAMB. verrastro@iamb.it

Giandomenico Consalvo. Vicepresidente Confagricoltura e Presidente di CIVI ITALIA (Consorzio nazionale tra associazioni vivaistiche ed unioni dei produttori). Corso Vittorio Emanuele II, 101. 00186 Roma. 06 6852342. 349 0022383.

23/03/2016 mattina; Area di ricerca di Bari

Pietro Perrino. Dirigente di ricerca in congedo. IPSP, CNR pietero.perrino@uniba.it

Vito Nicola Savino. Ordinario. DiSSPA +390805443069 int 3069 vitonicola.savino@uniba.it

Pasquale Saldarelli. Ricercatore, IPSP, CNR. +39 0805443065 pasquale.saldarelli@ipsp.cnr.it

Maria Saponari. Ricercatore, IPSP, CNR. +39 0805442932 maria.saponari@ipsp.cnr.it

23/03/2016 pomeriggio; Università di Matera

Cristos Xiloyannis. Ordinario. Università degli Studi della Basilicata, Dipartimento delle Culture Europee e del Mediterraneo: Architettura, Ambiente, Patrimoni Culturali (DiCEM). Via S. Rocco, 3. 75100 Matera. +39 3293606262. cristos.xiloyannis@unibas.it

24/03/2016 mattina; Lecce città e Università del Salento

Giovanni Secli. Coordinatore di Lecce del Forum Ambiente e Salute (Rete apartitica coordinativa di movimenti, comitati ed associazioni a difesa del territorio e della salute delle persone, Via Vico dei Fieschi – Corte Ventura 2. 73100 Lecce. 334 3600903; 0832493673 forumambientesalute@gmail.com - giogiuliana@alice.it

Luigi De Bellis. Ordinario, Università del Salento, Direttore Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali (DiSTeBA), Centro Ecotekne, Monteroni Lecce. +39 0832 298870
luigi.debellis@unisalento.it

Giorgio Doveri. Esponente del Gruppo di ricerca LAIR (Law and Agroecology – Ius et Rus), attivo dal 2012 come progetto finanziato con i fondi del 5 per mille all'Università del Salento.

Marilù Mastrogiovanni. Giornalista; curatore di un blog e autore di *Xylella* Report. 393 9801540
mlmastrogiovanni@gmail.com

Note sui contenuti degli incontri

b1. Boscia sulla scoperta della malattia. Nell'agosto 2013 a Taviano (Le) un olivicoltore gli segnala la malattia. Il sintomo è visibile su diverse piante e diventa oggetto di indagini da parte di DiSSPA e IPSP. Si noti che qualche mese prima, nel corso di un convegno, i sintomi erano stati associati alla presenza dell'insetto *Zeuzera pyrina*. Saponari del CNR esclude l'insetto e suggerisce di ricercare altri agenti eziologici. In settembre, nel corso di un sopralluogo, Martelli, sulla base delle sue conoscenze di analoghi disseccamenti osservati in California su vite, per primo suggerisce l'ipotesi *Xylella*. Viene richiesto da parte di Martelli a J.K. Uyemoto (*Department of Plant Pathology, University of California, Davis*) se sono noti casi di infezioni di *Xylella* su olivo (11/9/2013). Fine settembre: Saponari via PCR e sequenza conferma il suggerimento Martelli su 10 olivi, e su mandorli e oleandri. 13 ottobre 2013: Saponari, Martelli, Boscia e Nigro segnalano il caso al Servizio sanitario regionale, che lo trasmette a quello nazionale e a Bruxelles.

b2. Boscia sui sospetti. Il 28 ottobre 2013 a Racale (LE), nel corso di un convegno con gli agricoltori, emerge una posizione di sospetto relativa alle attività IAMB che nell'Ottobre 2010 aveva organizzato un *workshop* teorico-pratico sulle *Xylelle* nell'ambito di attività periodiche COST relative a Patogeni da quarantena. Vengono utilizzati ceppi di *Xylella* ricevuti dall'Olanda e piantine di vite infette, e una conclusione superficiale è che i ceppi si siano diffusi nell'ambiente. Bari però dimostra che il ceppo salentino (classificabile come *Xylella pauca*, Ceppo CODIRO ST 53) è del tutto diverso da quello delle esercitazioni (*Xylella fastidiosa*). Un ceppo molto simile molecolarmente si ritrova in Costa Rica su caffè e oleandro.

Il *workshop* COST su organismi fitopatogeni fu organizzato da alcuni fra i maggiori esperti internazionali, tra cui P.H. Janssen, e R. Almeida. Le esercitazioni pratiche vennero effettuate con l'uso di piantine di vite affette da *Pierce's disease* che furono distrutte alla fine del corso. E' prassi comune organizzare tali convegni in un contesto internazionale di grande circolazione delle merci, compresi materiali vegetali. Altri convegni simili sono stati organizzati a fini di prevenzione, per esempio a Caserta, con modalità del tutto simili anche per le esercitazioni.

b3. Boscia sui ceppi. ST 53 in Salento si ritrova su 22 diverse specie di piante, 5/6 forse asintomatiche. Anche olivi asintomatici ospitano il batterio. Un secondo ceppo ritrovato in Italia a Bolzano su una pianta asintomatica di caffè (ST73) è diverso da *pauca* e del tutto diverso da *fastidiosa*. Si stima che negli ultimi anni siano state importate 3000-5000 piante di caffè in Europa. Ipotizza che l'infezione possa essersi diffusa

da Alezio (6 Km da Gallipoli, 10 Km da Taviano). Le condizioni climatiche della baia di Gallipoli sono simili a quelle della baia di S. Francisco dove è presente il batterio (Flint , 2016). Distingue inoltre i sintomi riscontrabili per la Brusca dell'olivo (presente nella regione adriatica) da quelli prodotti dalla *Xylella* (Ionio). Conclude con due importanti notazioni: I°, in Salento è presente un solo ceppo; II°, il ceppo prima non c'era, e ciò da evidenze relative alle 22 specie che prima dell'arrivo del ceppo non si ammalavano. Inoltre, i nuovi focolai su olivo sono tutti da ascrivere a ST 53, inclusa la sua presenza su olivi asintomatici. Il ceppo ST 53 è stato trovato solo in Salento sull'olivo e su altre 22 piante, oltre che in Nicaragua sull'oleandro. Non può essere confuso con il ceppo che causa la *Pierce's disease*, causato dalla sottospecie *fastidiosa*. In Loconsole *et al.* (2016) si dimostra che in Puglia si ritrova un solo ceppo.

b4. Boscia sul monitoraggio regionale dell'espansione dell'epidemia. Condotta via Elisa, e se positivo confermato con PCR, ha considerato circa 60.000 piante quasi tutte asintomatiche nel periodo 2013-2015. Nel 2013 il batterio si ritrova a Gallipoli, dopo qualche mese a Lecce, poi moltissimi focolai e nel 2015 a Brindisi e Taranto (Dicembre). Il 2% delle piante monitorate è positivo.

b5. Boscia sul piano di abbattimento-contenimento. Nell'aprile 2014, a Trepuzzi, vengono abbattute le piante infette. Tuttavia nell'estate 2015 il sintomo si diffonde: 2000 piante sono positive per ST 53. Già nel febbraio 2014 l'Unione Europea aveva deciso che si dovessero bloccare le esportazioni vivaistiche dalle zone infette del Salento. Nel luglio 2014 la EU ritiene, inoltre, che si debbano abbattere solo i focolai di nuova identificazione, incluse le piante sane contigue a quelle ammalate, come si opera per il *virus Sharka* delle Drupacee, per il *virus* della tristezza degli agrumi e per il fuoco batterico.

b6. Boscia sulla non accettazione locale del piano. Oltre a un'indagine penale, nel cui ambito è stato disposto il sequestro delle piante in tutto il territorio pugliese, esiste un contenzioso promosso dai proprietari terrieri davanti al TAR di Lecce che ha bloccato gli abbattimenti nelle aziende dei ricorrenti ed è stato interessato anche il TAR per il Lazio

Con riferimento ai provvedimenti dell'Autorità Giudiziaria interna, si consulti il link:

http://www.informatoreagrario.it/ita/files/Decreto_Procura_Lecce.pdf

b7. Martelli sulla specificità del ceppo dannoso all'olivo. In Brasile un ceppo devastante per gli agrumi è diverso da ST 53. In Puglia gli agrumi testati escludono la presenza di *Xylella*.

b8. Martelli e l'origine dell'epidemia da invasione recente. Basa la sua conclusione a favore di una invasione recente sulle seguenti osservazioni: i) in Europa era nota la presenza solo di *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa* (Kosovo) e di *Xylella* su ornamentali in Corsica (ceppo *multiplex*); ii) tuttavia il ceppo del Salento è *pauca*; iii) un ceppo di *pauca* simile a ST53 si ritrova in Costa Rica; iv) il ceppo ST 53 trasmette la malattia a piante sane; v) tutti i prelievi da olivi con sintomi rivelano la presenza di ST 53.

b9. Martelli sulle misure. La varietà Leccino sembra tollerare più di altre l'infezione da *Xylella*. Una misura dovrebbe riguardare il trapianto di questa varietà nelle zone infette.

b10. Savino su possibili concause che contribuiscono con *Xylella* alla sintomatologia o che da sole determinano la comparsa di sintomi. E' deciso nell'escludere concause come rodilegno, funghi, cattiva agrotecnica. Si basa sull'esistenza di giovani piante ammalate che non sono esposte a concause diverse da *Xylella*.

b11. Savino sull'epidemia. Esiste un fronte di avanzamento ma anche una diffusione da focolai puntiformi spiegabili con la migrazione di piante ornamentali infette (Poligala, almeno altre 15 ornamentali tra cui mirto e acacia). Ipotizza che anche in Corsica la presenza di molti focolai di *Xylella* (*multiplex*) possa essere attribuita a piante ornamentali. Fa notare la mancanza di un centro di quarantena europeo per le piante importate da altri continenti.

b12. Savino sulle misure. E' favorevole agli interventi di controllo basati principalmente su eradicazioni e sul controllo del vettore. Prevede problemi futuri per la coltivazione di mandorlo e ciliegio. Nell'attuale fase di sviluppo dell'epidemia ritiene fondamentale una espressa volontà politica di risolvere il problema.

b13. Porcelli sulla malattia. Il disseccamento rapido è sintomo sfuggente e difficile, spesso da interpretare. Ora si può affermare che siamo in presenza di una vera e propria malattia.

b14. Porcelli sul ceppo. La quasi assoluta identità di ST 53 con i ceppi del Costa Rica, insieme alla ridotta comparsa in questo batterio di micro mutazioni (un nucleotide mutato ogni 15 anni) assegna alla Costa Rica l'origine del ceppo che è arrivato di recente in Salento con la migrazione di piante.

b15. Porcelli su vettore e misure. Il Salento è relativamente fortunato perché non si ritrovano nell'area tanti vettori come in Nord America. Il vettore è la Sputacchina (*Philaenus spumarius*) che trasmette il batterio in modo canonico per questo tipo di insetti. L'insetto non trasmette da giovane, perché poco mobile, e in assenza di piante serbatoio. Le piante erbacee sono possibili vettori. I sintomi sono evidenti in olivo e oleandro. Una misura importante è l'attenzione alla pulizia del terreno con le lavorazioni. Nelle condizioni di forte epidemia si ritrovano da 250.000 a 500.000 vettori per ettaro, densità correlata con il livello dei sintomi. Per il controllo del vettore propone di utilizzare lo schiacciamento per gli insetti giovani. Si possono anche usare insetticidi neonicotinoidi come imidacloprid, soprattutto contro gli insetti adulti. Le api non frequentano l'olivo, quindi il trattamento non ha conseguenze per gli alveari. Un trattamento di sarchiatura ritardata sarebbe di grande successo e basso impatto.

b16. Porcelli sulla situazione locale. Il mondo sociale locale ha posizioni molto variegata sul caso, spesso posizioni conflittuali rispetto a chi studia l'eziologia del CoDIRO. Esistono poi posizioni politico-ideologiche che si oppongono al possibile trasferimento tecnologico delle conoscenze scientifiche per ora disponibili sull'argomento. Viene criticata la gestione dei fondi per lo studio della malattia da parte delle istituzioni scientifiche baresi.

b17. IAM Bari sul corso Xylella del 2010. Il Coordinatore del corso COST 873 era il Prof. Daffi, Agroscope, Zurigo; il programma riguardava le malattie di piante agrarie e il *training* con *Xylella fastidiosa* era importante perché si temeva il suo arrivo ad attaccare la vite come in California. L'uso del batterio era autorizzato e le piante di vite infette e i ceppi richiesti e ricevuti da una banca internazionale per il germoplasma dei microrganismi non erano della sottospecie *Xylella fastidiosa* subsp. *paucis*.

b18. IAM Bari su presenza del batterio in Europa. Dopo la scoperta di *Xylella* patogena per l'olivo, e dal 2010 in poi, le intercettazioni del batterio si fanno numerose, come se prima il problema fosse stato sottovalutato. E' ora chiaro che il vivaismo ornamentale è l'occasione di nuovi arrivi specialmente da Costa Rica e Honduras. E' anche vero che la patogenicità del batterio riguardava fino al 2013 principalmente vite e agrumi.

b19. IAM Bari (Direttore Cosimo Lacerignola, Maurizio Raeli direttore aggiunto. Vincenzo Verrastro, Annamaria d'Onghia, Michele di Giaro) ed epidemia da Xylella. Dai dati pubblicati risulta che il campionamento, a cura del Servizio regionale, di piante sintomatiche accerta la presenza del batterio nel 99% dei casi, mentre per quelle asintomatiche il valore ritrovato è del 2-4 % (analizzate mediante Elisa). Questa bassa incidenza di ospiti asintomatici è stata citata dagli oppositori all'agente causale *Xylella* per negarne il ruolo nell'epidemia. Il caso del focolaio di Oria, dove in prima istanza solo una parte delle piante sintomatiche risultava infetta da *Xylella*, si è risolto in un secondo campionamento con il 100% di piante sintomatiche portatrici del batterio. A Torchiarolo, primo comune sopra Lecce (20 Km a nord di Lecce) in cui è stata segnalata l'epidemia, dove 2 anni prima positivi sintomatici erano assenti, al momento la malattia si diffonde, probabilmente trasportata dal vettore.

b20. IAMB su ceppo ST 53. Anche gli isolamenti locali da specie diverse dall'olivo, in Puglia hanno sempre condotto a ritrovare l'unico ceppo ST 53.

b21. IAMB e situazione attuale. Esiste la possibilità che la Corte di giustizia europea richieda l'intervento di abbattimento degli olivi. Nel caso, come si comporteranno le istituzioni?

b22. Consalvo, Confagricoltura, sul caso. Si dichiara allibito per quanto si vuole negare l'evidenza della *Xylella* come agente causale. Sostiene che il sistema Italia-agricoltura non ha reagito propriamente e che si sono prodotti danni, specialmente per il blocco del florovivaismo.

b23. Perrino e abbattimenti. E' contrario all'abbattimento degli olivi e contesta la progressione della malattia. Le ragioni che adduce sono: la monocultura di olivo è causa predisponente alle epidemie; e questo è il caso del Salento; i dati disponibili non sono sufficienti per concludere a favore dell'abbattimento; la presenza di funghi è almeno una concausa; le cattive pratiche agrotecniche, come errori di potatura, delle lavorazioni, dei trattamenti, degli erbicidi e in particolare del glifosate – un erbicida - predispongono la pianta se addirittura non la fanno ammalare. Segnala che il consumo dell'erbicida citato è molto alto a Lecce rispetto ad altre provincie e che gli sono noti dati del suo effetto negativo sui microrganismi utili e positivo su quelli dannosi. Ammette che dati sperimentali sul ruolo di queste cause o concause non esistono o non sono accessibili. Sostiene che chi adotta buone pratiche agrotecniche e, ancora meglio, utilizza agricoltura biologica, non ha problemi di disseccamento rapido, una posizione da verificare.

b24. Saldarelli su causa e concause. Esordisce alla prima domanda affermando che dati sperimentali relativi a possibili concause dell'epidemia non esistono. Cita una visita ai terreni di Gallipoli effettuata nell'ambito di un convegno su produzione DOP Bitonto dell'ottobre 2013, terreni dove gli olivi mostravano sintomi da batteriosi. I sintomi erano presenti anche in appezzamenti condotti bene, con potature adeguate, irrigati. Lo stesso vale per l'olivicoltura biologica (ha bassa incidenza sulle produzioni del Salento), non rilevante nel discostarsi da quella convenzionale. Conclude che l'agente eziologico è *Xylella* e che l'epidemia non è spiegabile in altro modo.

b25. Saldarelli e rimedi. Esiste una bassa percezione della gravità della malattia. Tuttavia, se si considera il 2015 a confronto con il 2013, la progressione epidemica si nota ed è grave. La zona di Ugento (a sud di Taviano) è molto colpita. Il Leccino può essere parte della soluzione: si presenta con concentrazioni batteriche inferiori di 100 volte rispetto ad altre varietà e già la trascrittomiche comparativa del genotipo indica alcuni geni candidati per effetti di tolleranza o resistenza. In occasione di una visita a terreni intorno a Gallipoli per attività di monitoraggio sul territorio ha osservato sintomi da batteriosi anche in oliveti condotti bene, con potature adeguate ed irrigati. Essendo l'intervistato originario di Terlizzi, paese vicino a Bitonto dove è presente una DOP, afferma di avere esperienza di terreni in cui si fa uso di diserbanti senza però che si osservi alcun sintomo di disseccamento assimilabile a quelli determinati da *Xylella* su olivo in Salento.

b26. Xiloyannis su buone pratiche agronomiche. Dal 2001 ha in atto un esperimento di conduzione di 1 ha di oliveto sostenibile a confronto con 1 ha di oliveto convenzionale. Il sostenibile ha accumulato sostanza organica (da trattamenti dell'umido da raccolta differenziata) con evidente aumento nel terreno di specie batteriche e fungine. Riporta di poter controllare le infezioni delle piante con antagonisti e non con fungicidi.

La sua esperienza dovrebbe essere utile per il caso *Xylella* che ritiene essere l'agente eziologico. La sua posizione è di convivere con la malattia senza procedere con gli abbattimenti, ma adottando buone pratiche agronomiche: riduzione della chioma alta, uso di *compost* e acqua, controllo dei funghi che peggiorano lo stato sanitario già compromesso, varietà tolleranti, lavorazioni superficiali e minime del terreno.

b27. *Xiloyannis e prospettive.* Condurre ricerche sul ruolo di possibili concause anche utilizzando questionari. Sollecita la definizione di linee guida lamentando l'assenza di agronomi nel Comitato regionale tecnico-scientifico. Ritiene che lo stallò sia dannoso.

b28. *Xiloyannis e trasmissione di Xylella.* A precisa domanda risponde che *Xylella* può essere trasmesso con le potature citando una pubblicazione specifica (5% di trasmissione con potatura vs 20% da parte del vettore).

b29. *Seclì e sintomi di disseccamento.* Sostiene che gruppi di agricoltori abbiano notato i disseccamenti già nel 2008 segnalandoli nel 2009. Esclude per questo che il *workshop* IAMB abbia avuto un ruolo causale nell'epidemia. Non ha certezze sulla causa prima (per esempio, cita la non corretta gestione di un fitofarmaco in territorio Gallipoli dove venne usato contro la rogna dell'olivo). Accetta comunque un ruolo importante di *Xylella* che potrebbe essere stata presente localmente già alla fine del 18° secolo (descritta da A. Ciccarone (Foggia) che fa riferimento in una sua pubblicazione ad una epidemia di disseccamento nella metà del 1700). Mutazione poi del parassita?

b30. *Seclì, concause e misure.* Concause possono esistere se in agro Gallipoli si ritrovano oliveti sani ed altri distrutti, evidenza poco spiegabile con quanto noto sullo sviluppo di una epidemia batterica. Possono essere coinvolti: trascuratezza agronomica, funghi, *Zeuzera pyrina*, potatura se diffonde i funghi, potature troppo radicali, assenza di norme certe per la conduzione degli oliveti infetti e non. Riporta che ispettori SANCO hanno segnalato nel 2014 la presenza di funghi che possono causare il disseccamento degli olivi. Segnala che potature dissennate potrebbero facilitare infezioni fungine, mentre si è osservato che potature importanti accelerano il disseccamento. Cita il Dr. Scortichini (CREA, Caserta) che pretende di conoscere un prodotto antibatterico utile, eventualmente da valutare come misura di contenimento di *Xylella*. Riporta sull'uso di una miscela di batteriofagi, un approccio proposto per la *Xylella* nella vite negli USA (Carlos Gonzales, <http://www.oliveoiltimes.com/olive-oil-making-and-milling/phages-xylella-fastidiosa/48797>). Lamenta ritardi di monitoraggio del territorio e si dichiara contrario agli abbattimenti rivelatisi inefficaci in Brasile.

b31. *De Bellis e la molteplicità di cause.* La discussione è stata poco fruttuosa. Si evince dalla stessa che l'esistenza di molte cause non ha per ora verifiche sperimentali. A domande specifiche sulla velocità di diffusione entro il territorio della malattia, sulle ipotesi causali della stessa e sugli esiti infettivi o non della

potatura non si ottengono notizie certe e utili. Non ritiene il batterio la causa del CODIRO: i sintomi non sono gli stessi.

Il Leccino è tollerante? Non è vero! Anche nel Leccino si arriva a titoli molto alti. Non ci sono cause note per l'eterogeneità dei ceppi. E' necessario accertare con questionario la sovrapposizione tra pratica agronomica e infezione. Potrebbe essere la *brusca*, qui presente in passato.

b32. Doveri e Mastrogiovanni sulla genesi da inquinamento ambientale. La causa dell'epidemia non è il batterio. Al massimo è una concausa dove il ruolo dell'inquinamento ambientale è quello principale (contaminazioni da polveri ILVA, da cemento, da combustibile da rifiuti, da concimi ottenuti dalle ceneri). Anche l'eccesso d'uso dell'acqua dalle falde via sfruttamento dei pozzi artesiani genera pericolose infiltrazioni di acque inquinate e marine che rendono gli effetti delle irrigazioni meno evidenti se non dannosi. Alla richiesta di dati su questi ruoli dell'inquinamento non sanno o non conoscono o non hanno disponibili dati certi, se non per l'abbattimento di capi di bestiame per la presenza di diossina.

Allegato C. Epidemia *Xylella* in Puglia: analisi genomica e origine del contagio

I dati recentemente pubblicati hanno stabilito che l'agente responsabile del *Complesso del Disseccamento rapido dell'olivo (CoDiRO)* è il batterio *Xylella fastidiosa* sottospecie *pauca*. L'analisi genomica ha permesso di stabilire che il batterio responsabile del CoDiRO si ritrova con identica sequenza in tutte le piante sintomatiche e in quelle infette durante il periodo, anche lungo, di incubazione (Cariddi *et al.* 2014, Bleve *et al.* 2016). Il batterio isolato da piante infette, e coltivato in forma pura in laboratorio, una volta reiniettato in piante sane di olivo e poligala, è in grado di riprodurre i sintomi della malattia, soddisfacendo quindi il postulato di Koch (EFSA Report, 2016).

Le sottospecie di Xylella fastidiosa

E' necessario accennare ai concetti e procedure che si utilizzano per stabilire i rapporti filogenetici tra organismi, siano essi strettamente imparentati (per esempio appartenenti alla stessa specie ma a sottospecie diverse) o tassonomicamente più distanti. Si deve considerare che la polimerasi che sintetizza il DNA a partire dal suo template e il sistema di riparo della molecola appena duplicata, commettono errori ad ogni singola replicazione (Shapiro, 2008). L'errore corrisponde alla frequenza di mutazione che per i batteri varia da 10^{-8} a 10^{-9} , e cioè da 1 a 10 sostituzioni di un singolo nucleotide con uno diverso ogni 0,1 - 1 miliardo di individui derivanti dalla riproduzione dello stesso progenitore (Drake *et al.*, 1998; Rosche e Foster, 2000). Ne consegue che ogni ceppo batterico ottenuto dallo stesso isolato ha una certa probabilità di essere in qualche modo diverso da genitore e fratelli (vedi Nota all'allegato C). Questo, pur rappresentando un esempio dei livelli di indeterminazione di teorie e processi scientifici, non impedisce ai tassonomi di produrre interpretazioni sicure dei rapporti filogenetici tra ed entro specie. Nel caso della *Xylella fastidiosa*, questa è stata suddivisa nelle sottospecie *Xylella fastidiosa (X.f.) multiplex*, *X.f. pauca*, *X.f. sandyi* (Almeida *et al.*, 2008; Kung e Almeida, 2011). L'approccio molecolare a questa classificazione utilizza le sequenze del DNA di frammenti genici del microrganismo. I frammenti vengono amplificati (operazione che, di suo, può aggiungere qualche mutazione) e sequenziati. La robustezza dell'assegnazione di un ceppo a una specifica sottospecie di *Xylella* viene ovviamente potenziata quando i geni ed i loro aplotipi considerati in un esperimento sono almeno una decina (13 geni, di cui 7 costitutivi, in Elbeaino *et al.*, 2014, per un totale di 4161 paia di basi, figura 1).

Questa procedura basata su un *set* di geni - di solito non coinvolti in processi evolutivi che ne stimolano forme particolari di evoluzione come per i geni per la resistenza alle malattie - è nota tra i tassonomi come metodo MLST, *Multilocus sequence typing* (Maiden *et al.*, 1998).

La figura 2 riassume visivamente il concetto: gli isolati della sottospecie *X.f. pauca* hanno tutti in comune, per esempio, gli stessi aplotipi dei geni *leuA*, *petC*, *lacF* e *holC*. L'esistenza di "mutazioni" topograficamente così vicine, tanto da escludere il ruolo della ricombinazione genetica nel separarle, attesta che i ceppi *pauca* sono molecolarmente simili "per ascendenza", e che, cioè, mentre nuove mutazioni possono comparire in

modo casuale nel DNA genomico di nuovi isolati del batterio, gli isolati con gli stessi aplotipi sono da includere nella sottospecie *pauca*. L'analisi evidenzia anche differenze tra il ceppo *pauca* isolato negli agrumi in America del Sud e il ceppo *pauca/CoDiRO* isolato negli olivi in Puglia (Elbeaino et al., 2014).

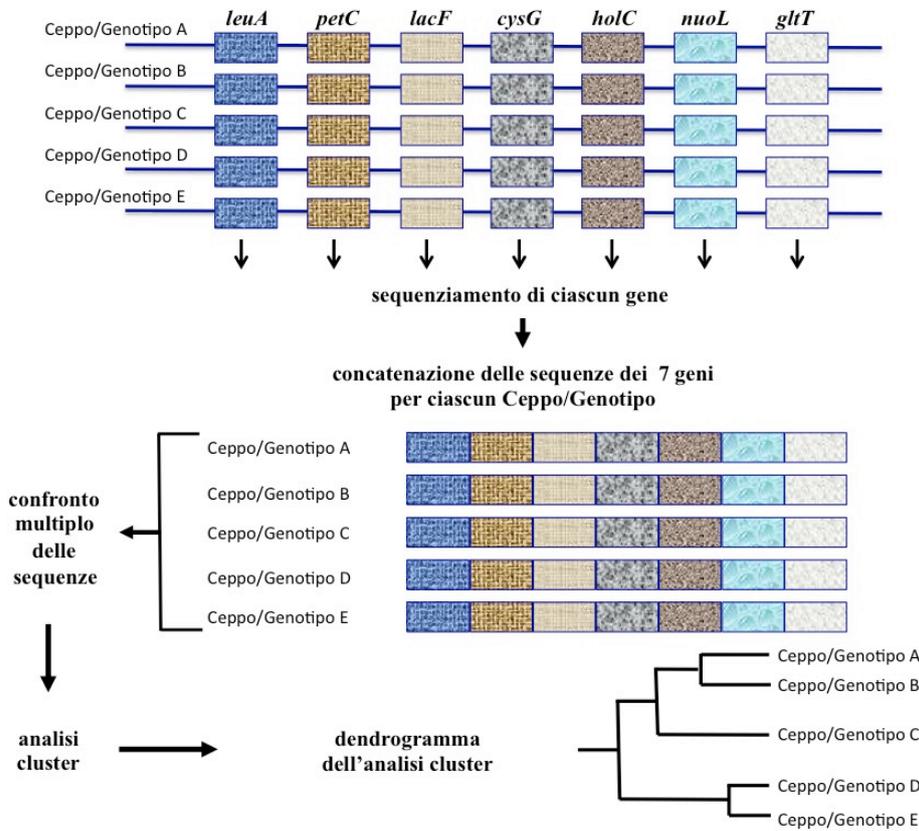


Figura 1

Ceppo/ Genotipo	Ospite	Loci MLST							subspecie	ST
		<i>leuA</i>	<i>petC</i>	<i>lacF</i>	<i>cysG</i>	<i>holC</i>	<i>nuoL</i>	<i>gltT</i>		
Xf6	Olivo	*	*	*	*	*	*	*	<i>pauca/ CoDiRO</i>	53
Xf9	Olivo	*	*	*	*	*	*	*	<i>pauca/ CoDiRO</i>	53
OLG2	Olivo	*	*	*	*	*	*	*	<i>pauca/ CoDiRO</i>	53
KM13	Olivo	*	*	*	*	*	*	*	<i>pauca/ CoDiRO</i>	53
OLDR-1	Oleandro	*	*	*	*	*	*	*	<i>pauca/ CoDiRO</i>	53
PW1	Pervinca	*	*	*	*	*	*	*	<i>pauca/ CoDiRO</i>	53
ALM1	Mandorlo	*	*	*	*	*	*	*	<i>pauca/ CoDiRO</i>	53
9a5c	Arancio	*	*	*	&	*	&	&	<i>pauca</i>	13
CVC0018	Arancio	*	*	*	&	*	&	&	<i>pauca</i>	13
Dixon	Mandorlo	o	o	o	o	o	o	o	<i>multiplex</i>	6
M12	Mandorlo	o	o	o	o	o	o	o	<i>multiplex</i>	7
GB514	Vite	^	^	^	^	^	^	^	<i>fastidiosa</i>	1
M23	Arancio	^	^	^	^	^	^	^	<i>fastidiosa</i>	1
Temecula1	Vite	^	^	^	^	^	^	^	<i>fastidiosa</i>	1
Ann1	Vite	§	§	§	§	§	§	§	<i>sandyi</i>	5

Figura 2

Un recentissimo contributo alla tassonomia di *Xylella* (Marcelletti e Scortichini, 2016) utilizza un approccio genomico applicato a 21 ceppi del batterio, e riduce le sottospecie a tre: *fastidiosa*, *multiplex* e *pauca*. La sottospecie *sandji* viene inclusa nella sottospecie *fastidiosa* e il ceppo presente sul pero a Taiwan sarebbe un isolato di una nuova specie di *Xylella*. I metodi adottati nel contributo citato sono basati sulle sequenze di 956 geni corrispondenti a circa 820 mila nucleotidi, sequenze poi analizzate essenzialmente con una procedura *Neighbor-joining* che genera un albero filogenetico, e con un *Neighbor-net network* che risulta in una rete filogenetica assimilabile ad un albero filogenetico più articolato. Nei due alberi il ceppo ST53 è, topologicamente, un tipico membro della sottospecie *pauca*, diverso da altri ceppi e parente più stretto del ceppo CFBP8072, dal quale si differenzia, comunque, nel 3% dei nucleotidi, a conferma dell'unicità del ceppo CoDiRO.

Le piante colpite dalla Xylella

Per i riflessi sulla comprensione della genesi e successiva epidemia pugliese, l'analisi dei casi recenti di infezione da *Xylella* offre la possibilità di mettere in atto un controllo dei ceppi di questo batterio. La *Xylella fastidiosa* (Wells *et al.*, 1987), specialmente nelle Americhe a clima temperato-caldo, può attaccare molte specie di piante (Janse e Obradovic, 2010; Purcell, 2013). Nell'ultima decade del secolo scorso, le malattie causate da *Xylella* sono diventate un grave pericolo per il continente americano, “*emerging diseases*” non notate prima. Vite, pesco, susino, mandorlo, acero, caffè, quercia, pero e erba medica sono specie che possono essere fortemente danneggiate dalla malattia, ma il patogeno può essere ospitato da centinaia di piante asintomatiche (Chatterjee *et al.*, 2008). Per alcune di queste malattie la patogenicità nei nuovi areali colonizzati da ceppi esotici di *Xylella* è la causa di associazioni pianta-patogeno prima non riportate. E' il caso del *Citrus variegated chlorosis*, CVC (Hopkins e Purcell, 2002). La clorosi CVC da *Xylella* è una malattia distruttiva degli agrumi, scoperta per la prima volta in Brasile nel 1987, che attacca tutte le varietà commerciali di arancio dolce. Nel 1993 fu identificato il suo agente causale in un ceppo di *X.f.* subsp. *pauca* che, fino al 2013, sembrava avere una diffusione ristretta all'America del Sud, particolarmente al Brasile ma con ritrovamenti recenti in Argentina (Haelterman *et al.*, 2015) e Paraguay. In Brasile *X.f. pauca* attacca in modo grave il caffè e l'arancio ma anche piante di olivo; si noti, però che questo ceppo di *pauca* isolato da olivi infetti ha la sequenza indicata con ST16, diversa dal ceppo isolato in Puglia (Della Coletta Filho *et al.*, 2016). Inoltre, anche se i ceppi che attaccano arancio e caffè sono geneticamente simili, tanto da essere classificati entrambi come *X.f. pauca*, ciascuno di essi è specifico per una sola specie vegetale. Negli agrumi, l'innesto può trasmettere il CVC, e il batterio si ritrova nei vasi xilematici delle piante sintomatiche. Dopo l'individuazione della eziologia, furono anche riconosciuti nel 1996 i vettori del batterio, 13 specie di insetti della famiglia delle Cicadellidae (cicadelle). E' importante notare che i sintomi dell'infezione possono comparire dopo un periodo che varia da 6 mesi ad alcuni anni (Colletta-Filho, 2014). La gravità della malattia ha consigliato nel 1993 l'adozione di misure molto severe, come il controllo obbligatorio di tutte le fasi vivaistiche da condurre in assenza di vettori in serra o *tunnel*. Oggi CVC è endemico in tutte le aree di produzione dell'arancio in Brasile e minaccia di diffondersi all'America del Nord (Redak *et al.*, 2004).

Pertanto, sono state sviluppate varietà di arancio resistenti alla infezione di *Xylella*, ovviamente la forma più efficace di lotta alla malattia (Colletta-Filho, 2014).

L'epidemia di Xylella in Puglia

Saponari e coautori hanno riportato per la prima volta nel 2013 la presenza di *Xylella* su olivo con sintomi di disseccamento (Saponari *et al.*, 2013). *Xylella fastidiosa* non era stata descritta in Europa se non per due casi non confermati, uno su vite nel Kosovo e l'altro su mandorlo in Turchia (Martelli, 2015). Il ceppo Xf9 isolato in Puglia da olivo (Elbeaino *et al.*, 2014a), è assegnabile a *Xylella* subsp. *pauca* (Simpson *et al.*, 2000) ed ha la sequenza nota come ST53. In un albero filogenetico ST53 è incluso nel *cluster pauca* con i ceppi 9a5C e CVC0018, (Gianpetrucci *et al.*, 2016). Nell'area dove l'epidemia è in atto, i nuovi foci e le specie di piante che il batterio può infettare indicano che il ceppo batterico è sempre quello noto come ST53 o CoDiRO (Loconsole *et al.*, 2016; Bleve *et al.* 2016). Il genoma del ceppo CoDiRO consiste di 2.507.614 bp. Sono state ritrovate, in confronto con altri ceppi, variazioni nei geni che codificano per fattori di virulenza. Il ceppo CoDiRO ha la più alta somiglianza con ceppi del batterio isolati in America Centrale, ma non con i ceppi che si ritrovano in California sull'olivo (Gianpetrucci *et al.*, 2016). Il vettore del batterio è l'insetto *Philaenus spumarius* molto comune e che, quando raccolto negli oliveti in zone colpite da *Xylella*, ha percentuali di infezione che raggiungono il 50% (Saponari *et al.*, 2014). Anche le specie di insetti *Neophilaenus campestris* e *Euscelis lineolatus* possono ospitare il batterio. Le piante che hanno rivelato sintomi da presenza di *Xylella* sono ciliegio, *Polygala myrtifolia*, rosmarino. Tutte le piante sintomatiche analizzate sono risultate infettate dal batterio (Saponari, 2015). Le sequenze di 5 geni amplificati da queste piante sono tutte identiche, al 100%, ad omologhi amplificati da campioni di olivi pugliesi infetti (Cariddi *et al.*, 2014). *P. myrtifolia* e *W. fruticosa* non erano note come ospiti del batterio. Molte delle specie infette da *Xylella* sono asintomatiche, o i sintomi si rivelano dopo molti mesi dall'infezione, o sono difficili da usare come indici diagnostici perché simili nella forma e colore all'effetto della siccità. E' stato spesso riportato un ruolo sinergico sulla severità dei sintomi di disseccamento dell'olivo dei funghi dei generi *Phaeoacremonium*, *Pleurostomophora*, *Phaeoconiella* e *Neofusicoccum* (Digiario e Valentini, 2015; Carlucci *et al.*, 2013a; 2013b; 2015). Spesso alcuni di questi dati sono stati citati per contrastare l'associazione definitiva di *X.f. pauca* all'agente causale del disseccamento dell'olivo. Gli autori di questa nota accettano, al contrario, sia le conclusioni dell'Agenzia europea ESFA che confermano l'individuazione in *Xylella* dell'agente causale della malattia, sia i documenti EFSA di risposta negativa alle proposte di cause infettive primarie, biotiche e abiotiche, alternative all'infezione batterica (EFSA PLH Panel, 2015; EFSA PLH Panel, 2016a; EFSA, 2016b (La *Xylella* sta provocando la malattia degli olivi in Italia); EFSA, 2016c; EFSA PLH Panel 2016d).

L'origine del ceppo pugliese di Xylella

Il ceppo pugliese X.f.9 di *X.f. pauca* ha un profilo allelico (ST53) molto simile a quello di ceppi di *X. f. pauca* isolati in Costa Rica da caffè e oleandro (Nunney *et al.*, 2014b; Digiario e Valentini, 2015). *X.f. pauca*

in Costa Rica è stata associata a una malattia del caffè nota come “crespera” (sviluppo irregolare della foglia, margini fogliari rivoltati, clorosi e mosaici). Nel giugno 2015, *X.f. multiplex* è stata ritrovata in Corsica su piante di poligala. L'Unione Europea di fronte al pericolo rappresentato dal batterio, ha rafforzato le misure per la circolazione di materiali vegetali. Il risultato è stato che piante infette sono state isolate da caffè importato dall'America Centrale. E' noto che ceppi *X.f. subsp. pauca* e *subsp. fastidiosa* possono infettare questo ospite. Si deve concludere che il Sud e il Centro America sono una riserva di diversità del batterio (Gianpetrucci *et al.*, 2015a). Ma già nel 2014 *X.f. pauca* e *X.f. fastidiosa* erano state ritrovate su piante importate dall'Equador e diagnosticate presuntivamente in piante ornamentali di caffè importate in Olanda dal Costa Rica e dall'Honduras (Bergsma-Vlami *et al.*, 2015). Dopo la scoperta di *Xylella* in Puglia e Corsica, piante infette dal batterio sono state anche segnalate a sud di Parigi, altre 11 intercettate in porti europei (Loconsole *et al.*, 2016). Dalle piante intercettate sono state ottenute sequenze simili al 97-98% tra di loro (Bergsma-Vlami *et al.*, 2015); tre isolati da caffè in Italia del Nord si sono originati da sottospecie diverse del batterio (Loconsole *et al.*, 2016). Uno di questi isolati, CO33, ha un profilo molecolare simile a ST72 (i due sono probabilmente ceppi ricombinanti essendo simili alle possibili nuove sottospecie *X.f. sandyi* e *morus*). Gli isolati olandesi da caffè importati dal Costa Rica sono assegnabili allo stesso gruppo di CO33 (Gianpetrucci *et al.*, 2015b). Dei ceppi isolati in Francia da 3 piante di caffè, 2 sono stati assegnati a *pauca*, il terzo a *fastidiosa* (Legendre *et al.*, 2014; Legendre, 2016). Sei ceppi del Costa Rica isolati da caffè e oleandro e sei ceppi isolati in Puglia da olivo, mandorlo, pervinca e oleandro sono molecolarmente identici (Bleve *et al.*, 2016). I dati citati si prestano a una semplice conclusione: la globalizzazione ha messo in crisi il sistema fitosanitario internazionale (de Mesa, 2015) che lascia, più che nel passato, filtrare piante infette da microrganismi patogeni. de Mesa (2015) riassume i diversi passaggi che il batterio *Xylella* ha probabilmente fatto dal Costa Rica via Olanda fino in Puglia. Anche l'EFSA conclude la sua valutazione del rischio *Xylella* affermando che i vettori della malattia sono stati e sono piante che dai vivai si diffondono per trasporto in aree olivicole; l'entrata del batterio in nuove zone, poi, è seguita dalla diffusione dell'infezione via insetti vettori (Stancanelli *et al.*, 2016).

I ritardi negli interventi per contenere l'epidemia

Già nel 2000, al tempo della pubblicazione a cura dei ricercatori brasiliani della decodificazione del genoma della *Xylella*, la considerazione di quanto gli autori del lavoro esponevano doveva allertare della pericolosità del batterio le Istituzioni interessate alla salute delle piante agrarie. Nella pubblicazione del lavoro di Simpson e collaboratori (2000), infatti, si commentava che *Xylella* ha geni simili a quelli trovati nel cluster 21 di geni *rpf* di *Xanthomonas* (*Rpf*, regulation of pathogenicity factors) che codificano per proteine regolatrici della sintesi di enzimi componenti dell'arsenale di virulenza. Il fatto che *Xanthomonas* sia un patogeno temibile e con un vasto spettro d'ospite (colpisce quasi 400 specie fra cui solanacee, brassicacee e drupacee) è una forte indicazione che, come l'altro batterio, *Xylella* può esprimere fattori patogenici e regolarne la sintesi (Chatterjee *et al.*, 2008). E' accertato che due piante agrarie tipiche del mezzogiorno italiano, come la vite e l'arancio, sono estremamente suscettibili ad alcuni isolati del batterio. E quindi era

stato logico e doveroso organizzare a Bari nel 2010 un corso sulla *Xylella*. Simili preoccupazioni avevano stimolato il Brasile a sequenziare il genoma del batterio, in questo primi al mondo. Si registra, a confronto, lo scetticismo di molti ricercatori e tecnici locali relativo all'agente causale della malattia dell'olivo. Eppure l'osservazione - probabile del 2012 - dei sintomi della malattia era stata seguita già nel 2013 dai primi dati certi sulla presenza del batterio, sulla conferma molecolare della sottospecie *pauca* implicata (2014) e del suo insetto vettore (2015), del genoma del ceppo CoDiRO (2016) e della trasmissibilità della malattia via inoculo con CoDiRO (ripercorrendo, più rapidamente, la serie per gli stessi eventi in Brasile: 1987, 1993, 1996, 2000). L'attuale stato di stallo relativo al controllo della diffusione della malattia è in parte anche dovuto alle accanite discussioni sulla sua eziologia. Non è, però, giustificato obiettare che fino a che la trasmissione per inoculo non è provata la causa della malattia non è certa: le esperienze brasiliane e californiane erano chiare nel far prevedere tempi lunghi per lo sviluppo di sintomi dopo inoculo artificiale. Parimenti è inutile sostenere che *Xylella* fosse già presente in Puglia da decenni o che i ceppi che attaccano l'olivo siano diversi, a suggerire che il batterio è un ospite usuale di questa pianta, incluso il ceppo CoDiRO visto come un agente secondario dell'insorgenza della malattia. In California, alberi di *Olea europaea* con sintomi di bruscatura fogliare sono stati analizzati per la presenza di *Xylella fastidiosa*. Il 17% erano positivi ma i sintomi non erano trasmissibili. Sei ceppi isolati da questi olivi sono della sottospecie *multiplex*. I test di patogenicità su vite e mandorlo confermano che i ceppi isolati dall'olivo determinano l'insorgenza della malattia in entrambe le piante con sintomi tipici del ceppo *multiplex*. Nel caso di *multiplex* l'infezione dell'olivo ha una bassa efficienza e non si diffonde. Si conclude che l'olivo può essere un rifugio per i vettori di *multiplex* che in California vengono combattuti radicalmente nelle colture di vite e agrumi con mezzi chimici (Krugner, 2014). Sempre l'esperienza brasiliana insegna che isolati diversi della stessa sottospecie *pauca* sono specifici per specie di piante diverse, una constatazione che rende plausibile che il ceppo CoDiRO si debba considerare specifico per l'olivo.

La lenta intrapresa di misure di contenimento ha precluso un intervento mirato di eradicazione. Infatti l'esperienza relativa al batterio nelle Americhe indica che quest'ultimo può essere eradicato solo immediatamente dopo la sua comparsa: una volta entrato in un territorio favorevole per clima e per flora, il batterio si stabilisce così fermamente da rendere impossibile eradicarlo e quello che rimane da mettere in atto è di contenere la sua area di diffusione. La discussione dei piani regionali di intervento continua tuttora. Ma intanto la malattia procede: ad ottobre 2013 nel Salento, dopo una analisi accurata, era stato stimato che gli olivi attaccati coprivano circa 8000 ha (Saponari *et al.*, 2013; Cariddi *et al.*, 2014; Lo Console *et al.*, 2014); un anno dopo si è ipotizzato che l'area colpita fosse di circa 10.000 ha, comprendenti circa un milione di alberi di olivo; a giugno 2015 l'intera provincia di Lecce di circa 2.300 km² (230.000 ha) risulta infetta (Martelli, 2015b, figura 3a,b). Fortunatamente, la suscettibilità di vite e agrumi a *X.f.* CoDiRO può essere esclusa perché in natura dalle due specie non è mai stato isolato *pauca*, un dato confermato dagli esiti delle infezioni artificiali (Saponari e Boscia, 2015).

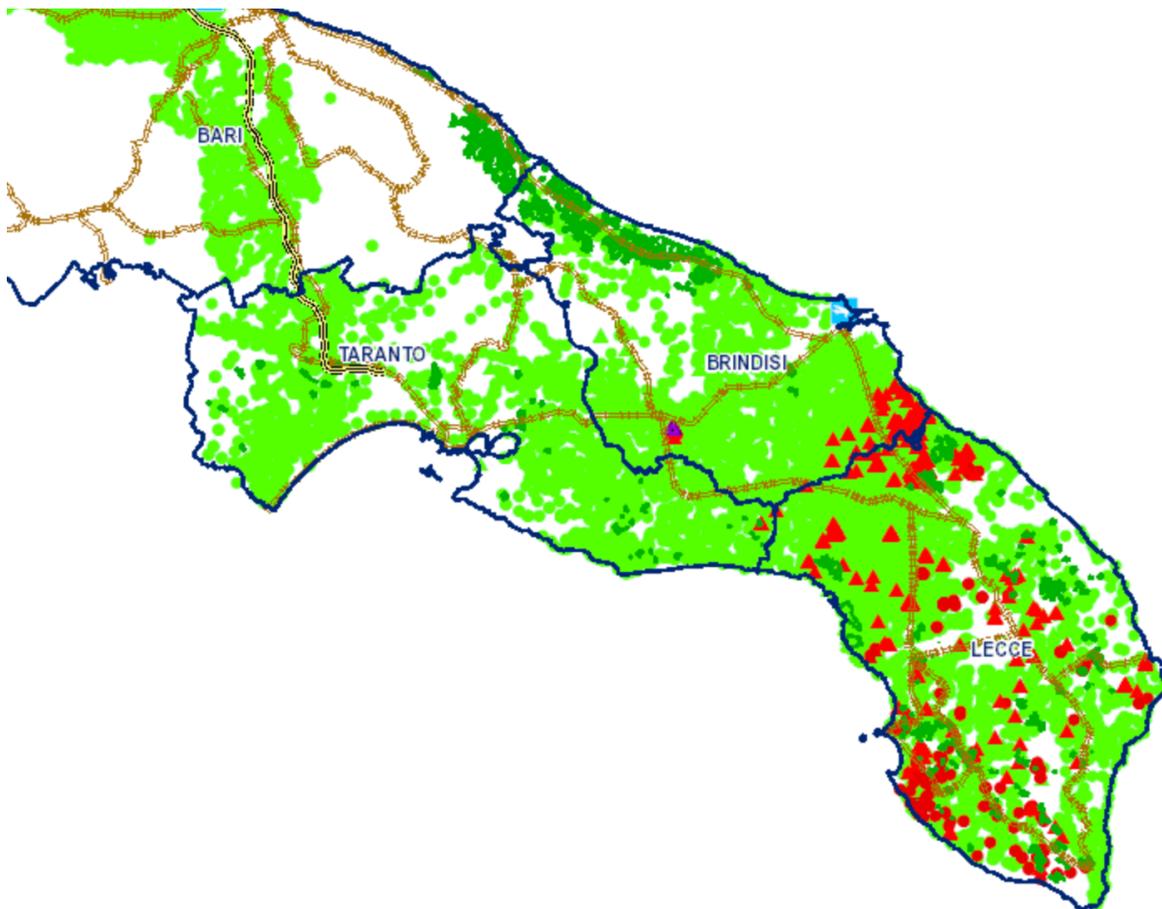
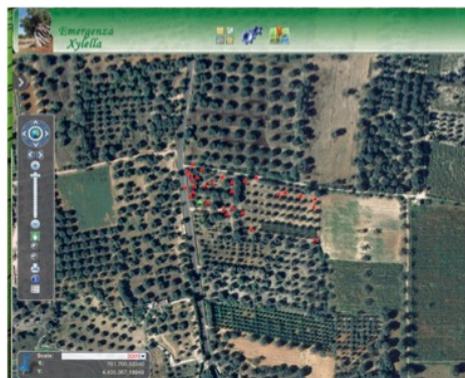
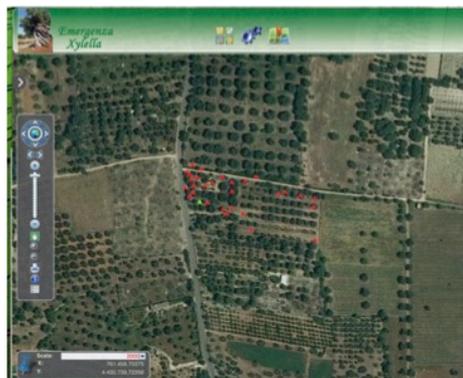


Figura 3a. Epidemia di Xylella nel Salento.

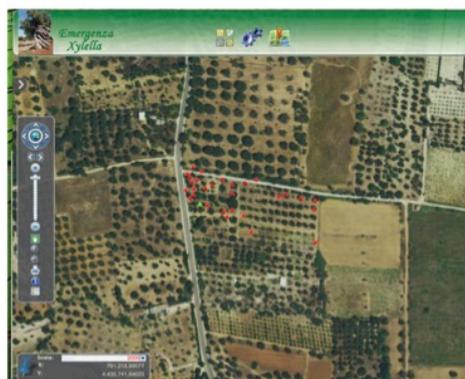
I simboli in rosso rappresentano le zone in cui è stata confermata la presenza di Xylella mediante test molecolari. In verde chiaro alberi di olivo, in verde scuro olivi monumentali



2006



2010



2013



2015

Figura 3b. Progressione dell'infezione in una zona vicino Gallipoli.

In numeri indicano gli anni del fotorilevamento. In rosso sono indicati gli alberi analizzati in cui è stata confermata la presenza di Xylella, in verde chiaro quelli non infetti.

Disputa scientifica

La discussione tra due parti, che possono essere ormai considerate contrapposte, dura da almeno due anni e al momento continua a focalizzarsi sulla natura molecolare della variante del batterio patogenica per l'olivo. L'isolamento e il sequenziamento di ceppi batterici presenti in olivi affetti dal disseccamento rapido dell'apparato fogliare, l'oggetto di questa ricerca, ha permesso di stabilire, tramite analisi delle sequenze di DNA, quali fossero i rapporti tassonomici tra questi isolati e altri ceppi di *Xylella fastidiosa* ospitati, in altre regioni del mondo, da molte specie vegetali e la cui presenza provoca gravi malattie in piante agrarie di grande coltura, come vite e agrumi (e oggi l'olivo). Sui media si registra l'attenzione verso il fenomeno dopo la pubblicazione di un secondo lavoro che riporta la sequenza di frammenti di alcuni geni da parte del CNR di Lecce (Bleve *et al.*, 2016) dato che queste nuove sequenze appaiono al 100% identiche a quelle già da tempo disponibile prodotta dal laboratorio del CNR di Bari (Elbeaino *et al.*, 2014; Gianpetrucci A. *et al.*, 2015; 2016). Si tenga presente, tuttavia: i) che le Istituzioni scientifiche di Lecce e di Bari hanno visioni relative alla malattia, specialmente alle sue cause, del tutto opposte; ii) che lo stabilire con certezza quale ceppo di *Xylella* sia responsabile del disseccamento rapido ha conseguenze rilevanti. Viene innanzi tutto a cadere l'ipotesi che esistano ceppi multipli nel Salento. Un'altra ipotesi, avanzata da gruppi ambientalisti in occasione della prima conferenza stampa in cui è stato dato l'annuncio dell'identificazione di *Xylella* come causa del CoDiRO (4 ottobre 2014), era che il ceppo batterico responsabile potesse essere fuoriuscito dai laboratori che lo utilizzarono in un corso di aggiornamento COST europeo tenutosi nel 2010 presso l'Istituto Agronomico Mediterraneo di Bari (IAMB). L'Istituto ha dimostrato però che nessuno dei ceppi utilizzati per il corso corrispondeva a quello poi associato alla malattia dell'olivo, un dato determinante per chiarire l'eventuale rotta che il batterio ha seguito nel raggiungere il territorio salentino a partire dall'America Centrale e Meridionale, i siti dove è endemico ed evolve le sue varianti (Chatterjee *et al.*, 2008; Hopkins e Purcell, 2002; Nunney, 2014).

Conclusioni

In questa rassegna di eventi, dati e rapporti sul caso *Xylella* in Puglia abbiamo considerato quanto desumibile in termini interpretativi specialmente da studi con una solida base scientifica. E' certo che i dati molecolari disponibili hanno rappresentato un contributo fondamentale alla comprensione della natura dell'agente della malattia, della sua diffusione e della specificità dei ceppi di *Xylella* per piante di rilevante interesse economico. Le informazioni scientifiche raccolte in questi anni in Puglia per tutto il periodo dell'allarme *Xylella* hanno anche dato indicazioni univoche, mentre le ipotesi alternative per l'origine del CoDiRO non sono mai state sostanziate da dati oggettivi. Purtroppo, ipotesi non verificate sperimentalmente hanno ritardato la messa in atto di misure contenitive della malattia.

Nota all'allegato C.

Se nei batteri la frequenza di mutazione di un singolo specifico nucleotide varia attorno a 10^{-8} (Drake *et al.*, 1998; Rosche e Foster, 2000) (in cento milioni di cellule batteriche derivanti dalla stessa progenitrice, una ha

una sostituzione nucleotidica a una precisa posizione del DNA), per un genoma di circa $2,5 \times 10^6$ nucleotidi come quello della *Xylella* (Simpson *et al.*, 2000), una nuova mutazione in un punto qualsiasi della sequenza del DNA batterico ha una probabilità pari a 1×10^{-8} moltiplicato per $2,5 \times 10^6$, e cioè a $2,5 \times 10^{-2}$ (una cellula in circa 250 ha almeno uno dei suoi due milioni e mezzo di nucleotidi diverso da quello del progenitore; si ritroveranno anche cellule con 2 o più mutazioni ma con frequenze molto più basse). Si noti che dove Bleve *et al.* (2016) riportano che la sequenza del loro isolato Salento-1 è per il 100% identica a quella dell'isolato CoDiRO sequenziato dal CNR di Bari (riportata in Giampetruzzi *et al.*, 2015) e Xf9 (in Elbeaino *et al.*, 2014), entrambi assegnati a *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*, essi si riferiscono alle sequenze di 7 frammenti genici: non si esclude perciò, come evidenziato, che in altre posizioni del genoma dell'isolato siano presenti nuove mutazioni; ma quando due isolamenti indipendenti di *Xylella*, *campionati dalle stesse piante ospiti in luoghi dove il batterio si è appena insediato e dove l'epidemia nasce al centro di un'area che si allarga in modo concentrico*, sono assegnati alla stessa sottospecie, è difficile non inferire che siano riconducibili allo stesso evento di comparsa del batterio nell'areale considerato. Esistono, infatti, caratteristiche differenze tra sottospecie di *Xylella* per quanto riguarda il *range* delle piante ospiti (Hernande-Martinez, 2007). Questo è importante perché l'identificazione molecolare e l'assegnazione alle sottospecie dei ceppi offre significative indicazioni per la lotta contro la diffusione dell'epidemia (Saponari e Boscia, 2015). Se si considerasse la probabilità di ottenere per mutazione un nuovo ceppo di *Xylella* con l'aplotipo di un gene di un'altra sottospecie (per esempio una nuova versione con 4 mutazioni nelle stesse posizioni ed identici nucleotidi di quelle dell'altra sottospecie), la frequenza di questo evento corrisponderebbe alla probabilità composta di 1×10^{-8} alla quarta, pari a 1×10^{-32} , un valore tanto basso da rendere impossibile l'origine per mutazione di una sottospecie da un'altra. I dati disponibili indicano invece nella ricombinazione tra ceppi una causa della formazione di nuove sottospecie. Il metodo MLST è in grado di differenziare tutte le sottospecie (Almeida *et al.*, 2008), e poiché il batterio è in grado di utilizzare la ricombinazione omologa tra sottospecie, solo usando MLST si assegna la sottospecie con sicurezza (Janse, *et al.*, 2012). Il ruolo della ricombinazione omologa *inter* subspecifica è risultato evidente quando si è notata la comparsa di ceppi di *Xylella fastidiosa* in grado di attaccare il gelso. Questa malattia indicata come *leaf scorch* è stata identificata 25 anni fa in California ed è dovuta a un ceppo di *Xylella* che potrebbe essere considerato una nuova sottospecie del batterio: *Xylella fastidiosa* subsp. *morus*. La sequenza di geni del nuovo isolato ha tra i suoi progenitori *Xylella* subsp. *fastidiosa* (introdotta dall'America centrale) e *Xylella* subsp. *multiplex* (nativa in USA) e il suo stato chimerico è da ricondurre a ricombinazione omologa interspecifica. Il ceppo ha una ridotta variabilità molecolare e poiché *X.f.* subsp. *fastidiosa* non è in grado di attaccare il gelso, il passaggio alla patogenicità deve essere stato favorito da una forte selezione sui prodotti della ricombinazione (Nunney, 2014). Il *gene flow* via ricombinazione omologa è oggi considerato un importante fattore evolutivo come causa di emergenza di nuove malattie causate dal batterio (Kung e Almeida, 2011; Almeda e Nunney, 2015). Si deve però introdurre anche la possibile origine mutazionale della capacità di colonizzare una nuova pianta che diventa ospite del batterio. Infatti, singole mutazioni in geni deputati alla virulenza del batterio (Simpson *et al.*, 2000) potrebbero generare la compatibilità tra il batterio e una nuova pianta ospite. Anche utilizzando

piattaforme genomiche avanzate è tuttavia laborioso e difficile ottenere la prova certa che una singola mutazione trasformi il batterio in agente causale della malattia

Allegato D. Note estratte dalla bibliografia

Almeida e Nunney, 2015. Perché un batterio relativamente sconosciuto ha avuto il suo genoma sequenziato, primo in questo dei batteri che causano malattia alle piante? Il batterio è in grado di stabilirsi in due distinti siti ecologici: l'intestino di un insetto vettore e i vasi xilematici delle piante. Dopo inoculo meccanico o da insetto, in molte piante *Xylella* è in grado di permanere al sito di infezione per lunghi periodi di tempo. Tuttavia le infezioni asintomatiche nel tempo diminuiscono (Purcell e Saunders, 1999). Un isolato della stessa sottospecie può essere trasmesso da differenti vettori in nuovi habitat colonizzati. Questo favorisce lo stabilirsi del batterio in nuove aree. E' acquisito che le specie di piante sintomatiche sono suscettibili a specifici isolati di specifiche sottospecie; per questo le *clades* filogenetiche del batterio hanno un numero ridotto di piante ospiti suscettibili (Nunney *et al.*, 2013). *Xylella fastidiosa* attacca specialmente piante arboree come quercia, olmo, platano, *Liquidambar* e *Carya*. Il batterio si introduce in nuovi ambienti principalmente con il trasporto di piante infette, potenzialmente asintomatiche. ST 53 in Costa Rica si ritrova sull'oleandro (Nunney *et al.*, 2014). La ricombinazione omologa entro specie conduce alla diffusione del batterio in nuovi habitat.

Almeida *et al.*, 2008. Esperimenti di *cross-inoculation* di 26 e 20 isolati di *X.f. pauca* - che inducono, rispettivamente, CVC (*citrus variegated chlorosis*) nell'arancio e CLS (*coffee leaf scorch*) nel caffè - indicano che gli isolati dalle due piante sono biologicamente distinti: infettano solo una specie, quella che attaccano in natura.

Almeida, 2016. La California ha 4 problemi dovuti alla *Xylella*: la malattia di Pierce al nord, presente da 100 anni, oggi con nuove forme epidemiche; la malattia di Pierce nel sud diffusa da un nuovo vettore, e che assorbe il maggior sforzo dei governi statale e federale; piccole epidemie di disseccamenti del mandorlo e dell'oleandro. Negli ultimi 15 anni sono stati investiti milioni di dollari nel monitoraggio, controllo, ricerca, e assistenza tecnica. Tuttavia non c'è cura certa per le infezioni alla vite. L'unico intervento è un approccio integrato alla malattia che include azioni e strategie multiple contro il patogeno e il suo vettore, nonché pratiche agricole e azioni sociali, economiche e ambientali. La malattia di Pierce costa alla California circa 104 milioni di dollari l'anno (Tumber *et al.* 2014). Azioni adottate (%per ciascuna azione): insetticidi nei vigneti 17,67; insetticidi fuori dai vigneti 1,51; eliminazione delle piante ammalate 38,88; potature 3,53; controllo delle infestanti 3,53; pulizia dei bordi dei campi 8,58; monitoraggio della malattia e dei vettori 14,64. Cosa è successo nel Sud California? Il vettore è arrivato attorno al 1990. Nella seconda parte degli anni 90 le popolazioni del vettore erano elevatissime, da 100 a 1000 insetti per pianta. La vicinanza alle colture di agrumi accentua la malattia. L'infezione molto forte arriva al 100% delle piante in un anno, La regione di Temecula ebbe il 40% di viti infette. La risposta di Temecula fu di sostituire la maggior parte delle viti ammalate, di rimuovere la sorgente di inoculo controllando il vettore (monitoraggio; controllo biologico; controllo chimico anche nelle coltivazioni di agrumi), di gestire in modo appropriato il vigneto.

Oggi le popolazioni dei vettori si sono radicalmente ridotte. Controllo chimico del vettore: trattamenti insetticidi agli agrumi, ospiti preferiti del vettore; trattamenti ai vigneti per ridurre la pressione del vettore. La diffusione della malattia è al momento bassa: meno dell'1% delle culture. Interventi dello Stato della California: contenimento, sorveglianza, risposte rapide, pubblicizzazione, ricerca, controllo biologico, progetti estesi a tutta l'area regionale. Risposte rapide: limiti, regole, trattamenti, monitoraggi, 17 eradicazioni. Sorveglianza; verifica delle aree non infette; nuovi foci del vettore e del batterio; applicata a 49 contee (6 con infezione, 36 senza, 7 in parte); nella stagione con picco del vettore, uso di 38.000 trappole nei vivai e nelle aree urbane .

Barba, 2016. Il disseccamento rapido dell'olivo è un fenomeno complesso associato alla gestione dell'oliveto e a infestazioni da insetti come *Zeuzera pyrina*, funghi del genere *Phaeoacremonium* e al batterio *Xylella fastidiosa*. *Zeuzera* gioca un ruolo secondario e i funghi possono aggravare la malattia. La presenza del batterio in Europa ha stimolato, in base alla direttiva 2009/EC, le ricerche necessarie a chiarire molte questioni ancora aperte. Vite e agrumi non sono infettati dal ceppo Co.Di.RO. Si riportano cartine geografiche con la diffusione della malattia nel 2013, 2014, 2015, marzo 2016. Drammatiche. In Italia solo la regione Puglia è dichiarata infetta.

Bergsma-Vlami et al. 2015. *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* in Costa Rica è stata associata a una malattia del caffè nota come “crespera” (sviluppo irregolare della foglia, margini fogliari rivoltati, clorosi e mosaici). *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* e *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa* sono state recentemente ritrovate in piante di caffè importate da Ecuador e da piante di *C. canephora* dal Messico. *Xylella* è stata diagnosticata presuntivamente in piante ornamentali di caffè importate in Olanda dal Costa Rica e dall'Honduras nell'autunno del 2014. L'analisi molecolare conferma la presenza di *Xylella* (da 96 al 100% di identità con ceppi standard). Da piante di caffè sono state ottenute tre diverse sequenze simili al 97-98% tra di loro.

Bleve et al., 2016. Salento-1 non è distinguibile dal ceppo CoDiRO che era stato assegnato a *Xylella* subsp. *pauca*. Sulla base dei dati e dell'analisi comparative con altri risultati, le sottospecie *pauca*, *multiplex*, e *fastidiosa* possono attaccare l'olivo in tutto il mondo (California, Italia, Argentina e Brasile). *Xylella fastidiosa* (Wells et al., 1987) è un batterio gram negativo che specialmente nelle Americhe a clima temperato-caldo può attaccare molte specie di piante (Janse e Obradovic, 2010; Purcell, 2013). L'olivo è infettato da *Xylella* subsp. *multiplex* in California (Hernandez-Martinez et al., 2007; Krugner et al., 2014; indicazione parziale). Nella penisola del Salento gli olivi attaccati coprono circa 8000 ha (Saponari et al., 2013; Cariddi et al., 2014; Loconsole et al., 2014). Xf9, il primo ceppo isolato da olivo (Elbaino et al., 2014), è filogeneticamente assegnabile a *Xylella* subsp. *pauca* 9a5c (Simpson et al., 2000). Xf9 ha lo stesso profilo allelico (ST53) di ceppi *Xylella* subsp. *pauca* del Costa Rica isolati da caffè e oleandro (Nunney et al., 2014). *Xylella* Salento-1 ha la stessa sequenza di ST 53 descritta per *Xylella* subsp. *pauca* Xf9 (Elbaino et al., 2014) e CoDiRO (Giampetruzzi et al., 2015). Sei ceppi di *Xylella* subsp. *pauca* del Costa Rica isolati

da caffè e oleandro e sei ceppi isolati in Puglia da olivo, mandorlo, pervinca e oleandro sono molecolarmente identici a ST53. In Brasile, piante di olivo sono infettate da *Xylella* subsp. *pauca* che ha una sequenza del DNA serotipo ST16, diversa dal ceppo isolato in Puglia (Della Coletta Filho *et al.*, 2016).

Boscia *et al.*, 2014. Storia della sintomatologia.

Bosco, 2016. I batteri sono ristretti al canale alimentare e non all'intero corpo dell'insetto vettore. La trasmissione di *Xylella* è possibile solo per gli insetti che si alimentano della linfa xilematica; non esiste una specificità della specie, ma tutti i succhiatori di linfa xilematica sono da considerare vettori potenziali. L'efficienza di trasmissione varia a seconda dell'insetto, della pianta ospite e del genotipo di *Xylella*. Almeno 38 specie di Cicadellidae, sottofamiglia Cicadellinae e 6 specie di Aphrophoridae e Cercopidae sono vettori di *Xylella fastidiosa*.

Tra tutte le specie europee di insetti che si alimentano di linfa xilematica, per ora solo *Philaenus spumarius* trasmette il ceppo CoDiRO di *Xylella fastidiosa* (Saponari *et al.*, 2014),

Mandorlo, ciliegio dolce, oleandro, ginestra, *Polygala myrtifolia*, *Westringia fruticosa* e *Acacia saligna* (Boscia *et al.*, 2014; Saponari *et al.* 2013) e recentemente *Rosmarinus officinalis*, *Rhamnus alaternus* e *Myrtus communis* (in Martelli *et al.*, 2016) sono sorgenti di inoculo per l'olivo. L'oleandro è un ospite terminale del batterio (Boscia *et al.* 2014) perchè *P. spumarius* non è in grado di nutrirsi e vivere su questa pianta. Sarebbero necessarie ricerche sui vettori per : fenologia, ecologia e preferenze di *P. spumarius* negli oliveti di differenti regioni italiane e nei vigneti; anche in aree dove l'oliveto non è monocoltura; caratterizzazione molecolare delle diverse popolazioni di *Philaenus spumarius*; ecologia chimica e risposta comportamentale del vettore ai composti volatili della pianta; insetticidi per l'agricoltura convenzionale e biologica da usare contro il vettore; caratterizzazione della trasmissibilità del batterio; dinamica nel tempo dell'associazione pianta-ospite. Conclusioni: “*Few information at this time! A lot of research work is needed*”.

Bosso *et al.*, 2016. Questi ricercatori dell'Università di Napoli sostengono che il batterio ha la capacità di diffondersi in tutto il bacino del Mediterraneo, colpendo olivi e piante autoctone in Portogallo, Spagna, Italia, Corsica, Albania, Montenegro, Grecia e Turchia, così come in tutti i paesi del nord Africa e del Medio Oriente. In Italia, il batterio si può diffondere oltre il nord della Puglia in Calabria, Basilicata, Sicilia, Sardegna, Campania, Lazio, e sud della Toscana.

Bragard, 2016. Il modo naturale di diffusione del batterio è l'insetto vettore che può volare per distanze fino a 100 metri, ma che è trasportabile a distanze superiori dal vento. EFSA ha avuto assegnato il compito di valutare il rischio di *Xylella* e del suo vettore per l'intera Europa; identificare le opzioni per ridurre il rischio e valutarne la loro efficacia; valutare le azioni fitosanitarie contro la malattia come da direttiva 2000/29/EC; considerare i dati che emergono dalle indagini condotte nell'area infetta pugliese. Malattie causate da *Xylella*:

Pierce's disease nella vite; dwarfismo nell'erba medica; *Leaf scorch* nel mandorlo; *Phony disease* nel pesco; *Leaf scald* nel susino; *Variegated chlorosis* negli agrumi; *Leaf scorch* negli aceri; *Leaf scorch* nell'oleandro. Al momento gli ospiti di *Xylella* (359) appartengono a 75 famiglie botaniche e le specie ospiti variano per ogni ceppo del batterio. Il batterio è un grave rischio per il territorio europeo. Conclusioni sull'arrivo del batterio: piante ornamentali trapiantate nei giardini. La probabilità è molto elevata perché 1) sono sorgenti del batterio ; 2) possono essere asintomatiche; 3) importate da paesi dove *Xylella* è presente; 4) i batteri sopravvivono al trasporto; 5) specialmente nelle piante asintomatiche; 6) il trasferimento a un ospite adatto è semplice. Conclusioni sull'arrivo del batterio: infezione da vettori infetti. Le probabilità sono moderate che il batterio si muova per trasporti del vettore; questo perché la malattia è spesso associata alle modalità di uscita di materiali dai paesi esportatori; le condizioni di trasporto possono essere non permissive per il vettore; dipende dalle pratiche fitosanitarie esistenti in aree a rischio. Conclusioni sullo stabilirsi del batterio in una nuova area. Le probabilità sono alte perché il batterio può infettare un ospite tra i molti sui quali può vivere e il vettore può nutrirsi su molte specie di piante; alte perché il batterio si adatta a diverse condizioni ambientali (esistono dati in conflitto sulla sua capacità di sopravvivere all'inverno); le misure di controllo e le pratiche colturali per evitare lo stabilirsi del batterio sono spesso inefficienti.

Conclusioni sulla diffusione della malattia: le probabilità sono molto alte per l'alto numero di specie ospiti, la polifagia e la diffusione del vettore *P. spumarius*, le difficoltà di controllare i movimenti umani dall'area infetta verso l'esterno, difficoltà di contenere il vettore. Conclusioni sulle conseguenze. Sono valutate come rilevanti perché: le perdite produttive sarebbero elevate; gli aspetti negativi riguardano l'agricoltura ma anche le attività da essa derivate; l'impatto sul patrimonio culturale, storico, ricreativo del paesaggio è elevato; l'impatto degli insetticidi sulle catene trofiche esiste.

Cariddi et al., 2014. Viene isolato e coltivato il batterio da olivi infetti dove però la contaminazione da altri batteri rende difficile l'operazione. Colture pure si ottengono facilmente da oleandro e pervinca. I ceppi isolati permettono di sequenziare frammenti genici. Le sequenze indicano che i ceppi da oleandro e da pervinca sono identici a quelli amplificati da olivo, e confrontati a sequenze disponibili in letteratura permettono di assegnare il batterio alla sottospecie *pauca*.

Chatterjee et al., 2008. La malattia causata da *Xylella fastidiosa* nelle sue molte sottospecie è descritta per erba medica, pesco, susino, mandorlo, acero, caffè, quercia, pero e per molte altre specie e il batterio si può ritrovare in centinaia di altre piante asintomatiche. Già nel 2008 il presunto di *Xylella* e la sua similarità con quello di *Xanthomonas* indicano questa specie come estremamente pericolosa per le piante. *Xylella fastidiosa* è stata nel passato associata a molte malattie, ma nuove e importanti malattie causate dal batterio e la diffusione dei relativi vettori rendono *Xylella* di rilevante interesse economico per i danni che procura. A livello genomico il patogeno ospita sistemi di virulenza simili a quelli di *Xanthomonas* ma è diverso per specifici complessi genici della patogenicità.

Chauvel et al., 2015. Sono stati isolati in Corsica 56 casi di *multiplex* da Poligala, uno da Ginestra. Le piante contigue a quelle positive per il batterio sono esenti dallo stesso. Il rapporto sostiene la necessità di ricerca sul batterio e sua filogenesi, sul vettore ancora non noto, a favore della sorveglianza del territorio. Obiettivi. Origine: piano per possibili misure (14 segnalate) per conoscere l'origine del batterio in Corsica. Vettore: potenziali specie di insetti; considerare *P. spumarius*; piante agrarie potenzialmente ospiti del vettore; biologia dei vettori e delle piante serbatoio del batterio. Produzioni agricole: controllo di agrumeti e agrumi anche esportati; verifica delle condizioni climatiche favorevoli; campagne di informazione. Nelle Americhe il batterio è segnalato dall'Argentina all'Ontario

In Puglia più di 200,000 ha sono infestati da *pauca*. *X.f.* segnalata in Iran (Amanifar et al., 2014).

Francia. Piano di sorveglianza nazionale del 13.5.2015. Il numero degli insetti vettori è correlato con il tasso di trasmissione di *Xylella*. Il rapporto occupa ben 139 pagine: riflette la preoccupazione francese che *Xylella* possa stabilirsi e rendersi nociva nel paese.

Choi et al., 2013. Benchè all'analisi del trascrittoma la risposta della vite a infezioni da *Xylella* sia diversa da quella indotta da stress da carenza di acqua, i dati indicano che le due situazioni hanno in parte modificazioni dell'espressione genica comuni, spesso con evidenze di alterazioni molecolari sinergiche.

Cornara et al., 2016. Quattro insetti che si nutrono di linfa xilematica sono stati ritrovati in oliveti e nella vegetazione circostante. *P. spumarius* è la specie più abbondante e la sola positiva per *Xylella*. Le ninfe dell'insetto si formano entro la schiuma a forma di sputo e gli adulti migrano all'olivo da Maggio a Ottobre. L'insetto trasmette il batterio da olivi infetti ad olivi non infetti.

Della Colletta-Filho et al., 2014. Il batterio colonizza il frutto e il seme; tuttavia, dopo esperimenti ripetuti per 7 anni, non si ritrova in plantule derivate da semi infetti.

Della Colletta-Filho, 2014. Il batterio *X. f.* subsp. *pauca* era, fino al 2013, ristretto all'America del Sud, particolarmente al Brasile ma con ritrovamenti recenti in Argentina e Paraguay. In Brasile attacca in modo grave il caffè, l'arancio e il susino. Anche se i ceppi che attaccano caffè e arancio sono geneticamente simili, tanto da essere classificati entrambi come *pauca*, essi non attaccano entrambe le specie nominate. Nel 1987 è emersa ed è stata descritta la malattia dell'arancio nota come CVC. Non conduce alla morte della pianta ma riduce molto significativamente la produzione. Non si trasmette per seme ma viene veicolata da 13 specie di insetti. I sintomi sono ambiente-dipendenti. L'innesto può trasmettere il CVC e studi al microscopio elettronico rivelarono che i batteri erano presenti nei vasi xilematici delle piante sintomatiche. Nel 1993 fu individuata la causa eziologica del CVC nel batterio *Xylella fastidiosa*. Più tardi furono anche individuati i vettori del batterio. Il periodo asintomatico post-infezione va da 6 mesi ad alcuni anni. La gravità della malattia ha consigliato nel 1993 l'adozione di misure molto severe, come controllo obbligatorio di tutte le fasi vivaistiche da condurre in assenza di vettori in *screenhouses*, la selezione delle piante madri per la

riproduzione, la riduzione dei vettori e dell'inoculo, il miglioramento genetico anche con il cisgenico. Tutte le varietà di arancio dolce sono suscettibili (con eccezioni); varietà di mandarino sono resistenti; gli ibridi tra *C. sinensis* e *C. reticulata* sono resistenti, così come i limoni. Oggi CVC è endemico in tutte le aree di produzione dell'arancio in Brasile. Sono state sviluppate varietà di arancio resistenti alla infezione di *Xylella*.

Das et al., 2015. La *Pierce's disease* della vite è causata da *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa*. E' stata valutato l'effetto di una miscela di 4 fagi litici su *Xylella* a fini terapeutici e profilattici per la cura di infezioni su vite. Il livello di presenza del batterio risulta significativamente ridotto. In particolare si è notato un rallentamento nel progresso dei sintomi PD e non è stata notata la comparsa di ceppi di *Xylella* resistenti ai fagi. L'esperimento può essere alla base di metodi per il bio-controllo del batterio.

de Mesa, 2015. Riporta il movimento di *Xylella* da Costa Rica via Olanda fino in Puglia. La globalizzazione ha messo in crisi il sistema fitosanitario internazionale.

De Souza et al., 2014. Descrive due strategie per il controllo del CVC; la prima si basa sul miglioramento dell'arancio all'infezione da *Xylella* utilizzando incroci di *Citrus sinensis* con *Citrus reticulata*. La seconda utilizza il composto N-Acetylcysteina usata contro le infezioni umane. Si osservano dopo trattamento remissioni significative dei sintomi e una ridotta replicazione batterica. E' stata sviluppata una forma di concime a lento rilascio per applicare il composto alle coltivazioni.

Digiario e Valentini, 2015. A favore del ceppo ST 53 come agente causale dell'epidemia.

Ruolo sinergico sulla severità dei sintomi di funghi del genere *Phaeoacremonium* e *Phaeomoniella*. A Giugno 2015 circa 90mila ettari infetti nel Salento. L'intero genoma di *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* ST53 è sequenziato (Gianpetrucci et al., 2015). Somiglianza stretta a *pauca* del Costa Rica dove infetta fiori spesso esportati in Europa. La suscettibilità di vite e agrumi a CoDiRO in natura deve essere esclusa perché da queste specie non è mai stato isolato *pauca*. Il vettore è *P. spumarius*. Le specie *Neophilaenus campestris* e *Euscelis lineolatus* possono ospitare il batterio. Commento alla Legge DM 2777 del 26.9.2014 per il controllo obbligatorio del batterio. Necessità che il grande pubblico sia educato per evitare il movimento di piante infette e il rischio di nuovi focolai, Necessita ritrovare olivi con resistenze genetiche verso *Xylella*. Tecniche molecolari per il monitoraggio veloce. Controllo dei vettori.

Non è il solo caso di recente invasione. Altri casi sono ascrivibili a *Rhynchophorus ferrugineus*, *Drosophila suzukii*, *Dryocosmus Kuriphilus*, *Tuta absoluta*, *Anoplophora chinensis* e *Pseudomonas syringae actinidiae*

Dongiovanni et al., 2016a. I migliori risultati per il controllo dell'insetto vettore sono stati conseguiti con formulati a base di insetticidi neonicotinoidi: acetamiprid e imidacloprid.

Elbaino et al., 2014a. Utilizzazione di *Multilocus sequence typing* (MLST) per la filogenesi di *Xylella* basato su frammenti di 13 geni (4161bp). Il ceppo isolato in Puglia da olivi mostra la più elevata somiglianza molecolare con *pauca*, pur essendo diverso dai *pauca* noti, definendo il serotipo ST53. In un albero filogenetico ST53 è incluso nel cluster *pauca* con i ceppi 9a5C e CVC0018. La vicinanza genetica del ceppo ST53 alla sottospecie *pauca* lo fa ritenere potenzialmente patogenico per altre specie agrarie, in particolare per gli agrumi che sono pesantemente attaccati da *pauca* (l'agente eziologico della malattia CVC). Secondo D. Boscia ST53 non è infettivo per gli agrumi.

Elbaino et al., 2014b. *Xylella* viene ritrovata negli insetti *P. spumarius*, *Neophilaenus campestris* e *Euscelis lineolatus*, ma solo in insetti catturati da aree infette dal batterio.

Fadel et al., 2014. Dopo aver notato che una varietà di arancio dolce resisteva a *Xylella fastidiosa*, una considerazione di esperimenti di trasmissione del batterio dimostra che la varietà non ha sintomi dopo inoculo ed ha basse concentrazioni batteriche nei suoi tessuti.

Frisullo et al., 2014. Nel passato sono stati notati nella provincia di Lecce molti casi di disseccamento dell'olivo riportati come "brusca". La coincidenza di questi sintomi con quelli del CoDiRO ha generato speculazioni relative alla presenza negli ultimi 250 anni di *Xylella fastidiosa* nella provincia di Lecce. Questo lavoro nega questa ipotesi e si imputa il disseccamento rapido al batterio *Xylella*. Alberi di 50-70 anni o più giovani hanno una sindrome della malattia meno severa di quella notata su alberi centenari. Questi alberi potrebbero anche non morire.

Gianpetrucci et al., 2015a. Il genoma del ceppo CoDiRO consiste di 2.507.614 bp(52% GC). Il genoma è stato anche annotato (6 geni rRNA, 49 tRNA, 2,053 geni codificanti proteine). Un plasmide di 35.318 bp è presente ed ha il 98% di similarità con il plasmide coniugativo pXF-RIV5, tuttavia diverso da questo nel codificare geni del sistema tossina-antitossina. Sono state ritrovate, in confronto con altri ceppi, variazioni nei geni che codificano per fattori di virulenza. Il ceppo CoDiRO è geneticamente da assegnare a *Xylella* subsp. *pauca* avendo inoltre la più alta somiglianza con ceppi del batterio isolati in America Centrale ma non con ceppi che si ritrovano in California sull'olivo.

Gianpetrucci A. et al., 2015b. Nel giugno 2015, *Xylella* è stata ritrovata in Corsica. La Comunità Europea di fronte al pericolo rappresentato dal batterio, ha rafforzato le misure per la circolazione di materiali vegetali. Il risultato è stato che piante infette sono state isolate in Olanda da caffè importato dall'America Centrale. E' noto che ceppi di *Xylella* subsp. *pauca* e *fastidiosa* possono infettare questi ospiti. Si deve concludere che il Sud e il Centro America sono una riserva di diversità del batterio. L'isolato CO33 che proviene da una pianta di caffè intercettata in Italia settentrionale ha un profilo molecolare simile a ST72. Altri isolati da piante di caffè importati in Olanda nell'Ottobre 2014 dal Costa Rica, sono assegnabili allo stesso gruppo di CO33.

CO33 è geneticamente vicino a diverse sottospecie di *X. fastidiosa*. Nella sua sequenza la parte prevalente di frammenti letti è associabile a isolati della subsp. *sandyi* o subsp. *morus*, un dato che sostiene la complessità genetica di questo batterio patogenico per le piante e il ruolo della ricombinazione omologa sub-interspecifica nel generare nuove varianti.

Gianpetrucci et al., 2016. La presenza di *Xylella* a livello di trascrizione genica è evidente sia nella cv Ogliarola (suscettibile al batterio) che in Leccino (tollerante). La sovra-espressione di geni codificanti per *kinasi receptor like* (RLK) e proteine *receptor like* (RLP) è tipica di Leccino e assente in Ogliarola. E' possibile che Ogliarola reagisca a *Xylella* con una risposta simile a quella elicitata da siccità, mentre Leccino, che mostra un più basso titolo del batterio, essendo meno sensibile a *X.f.* e più adatto a contenere la presenza del batterio, non ha la stessa reazione di Ogliarola e non sovra-esprime geni della risposta allo stress da siccità.

Gualano et al., 2014. Immagini aeree consentirebbero di cogliere i sintomi della malattia in una fase iniziale e quindi di individuare i nuovi focolai.

Guario et al., 2013. Gli autori scrivono “ *Tra le cause dei disseccamenti sono stati esclusi l'inquinamento della falda e delle acque di irrigazione o l'immissione di sostanze tossiche nel terreno, in quanto la sintomatologia interessava esclusivamente gli olivi e non altre colture (agrumi e altri fruttiferi compresa la vite), piante ornamentali o specie vegetali comunemente presenti nella stessa zona, anche in forma consociata, le quali, seppur riportate come sensibili a xenobiotici , non mostravano alcun sintomo di deperimento vegetativo*” . Segnalano il ruolo chiave di *Xylella fastidiosa*. Riportano l'assegnazione dei ceppi del batterio a quattro sottospecie principali, *pauca* inclusa che infetta agrumi e caffè.

Haelterman et al., 2015. La sottospecie *pauca* è stata ritrovata su olivi con sintomi di disseccamento in Argentina e assegnata alla sottospecie con metodi molecolari.

Hartung, 2014. Risultati come in Colletta-Filho et al., 2014.

Hernande-Martinez et al., 2007. Filogenesi nel genere *Xylella*.

Hill e Purcell, 1995. La permanenza del batterio nella pianta dipende dal periodo di infezione: se è nell'estate il tralcio si riprende durante l'inverno e torna libero dal batterio nella prossima stagione. I molti ospiti del batterio sono sorgente di infezione. La moltiplicazione del batterio ha una cinetica diversa nei diversi ospiti vegetali.

Hopkins , 2014. Si riportano dati su insetticidi sistemici contro i vettori, rimozione delle specie ospite, riduzione degli stress abiotici, resistenze genetiche, inoculo con ceppi benigni.

Hopkins e Purcell , 2002. Nell'ultima decade del secolo scorso, le malattie delle piante causate da *Xylella fastidiosa* sono diventate un grave pericolo per le Americhe. Sono “*emerging diseases*” non notate prima ma che oggi sono un grave problema. Per alcune di queste malattie la patogenicità da ceppi esotici di *Xylella* rappresenta una nuova associazione pianta-patogeno. E' il caso del *Citrus variegated chlorosis* (CVC) in Sud America attorno al 1980, e della comparsa dell'*Oleander leaf scorch* in California negli anni 90. *Pierce's disease* (PD). Attorno al 1880 una nuova malattia in pratica elimina la vite dall'area intorno a Los Angeles. Newton Pierce descrisse i sintomi della malattia così accuratamente da essere ancora riconoscibili con precisione nelle piante oggi ammalate. Ma ne lui ne i suoi successori furono in grado di indicare quale agente causale faceva sorgere la malattia. Cinquanta anni più tardi una epidemia in California stimolò di nuovo l'interesse per la malattia e nel periodo 1939-1945 si scoprì che insetti succhiatori della linfa xilematica erano i vettori delle infezioni. La soluzione al problema posto da *Xylella fastidiosa* è stata la coltivazione di viti resistenti. I sintomi PD diventano più severi sotto stress come siccità, potatura radicale delle radici, altre malattie, superproduzione , stato di senescenza. Se ne deduce che le buone pratiche colturali sono efficaci nel ridurre i sintomi. L'uso di ceppi attenuati del batterio che non causano l'insorgenza della malattia può attenuare l'effetto dei ceppi virulenti. Una realistica possibilità è di prevenire l'introduzione e la diffusione di ceppi esotici di *Xylella*.

Krell et al., 2007. Sono stati studiati quattro possibili meccanismi di trasmissione di *Xylella* a *Vitis vinifera*: trasmissione da innesto naturale tra radici, trasmissione da forbici potatrici, da parte di ninfe e adulti di *Homalodisca liturata*, e di adulti di *Diceroprocta apache*, due insetti della California. Non si sono ritrovati innesti naturali tra radici di viti immuni o infette da *Xylella* e, di conseguenza, viene esclusa la trasmissione del batterio da innesto naturale. Uno su 21 casi di trasmissione da forbice da innesto ha permesso la trasmissione di *Xylella*. Benché il caso sia relativamente raro, è comunque necessario verificare tutti i possibili meccanismi che possono portare a nuove infezioni di *Xylella*.

Krugner , 2014. In California, alberi di *Olea europaea* con sintomi di *leaf scorch* (bruscatura fogliare) o *branch dieback* sono stati analizzati per la presenza di *Xylella fastidiosa*. Il 17% erano positivi ma i sintomi non erano trasmissibili in serra. Sono stati isolati 6 ceppi assegnati tutti a *Xylella* subsp. *multiplex*. I test di patogenicità su vite e mandorlo confermano che i ceppi isolati dall'olivo determinano l'insorgenza della malattia in entrambe le piante con sintomi tipici di *multiplex*. L'infezione dell'olivo ha una bassa efficienza e non si diffonde. *Homalodisca vitripennis* può trasmettere all'olivo ceppi di *multiplex* e di *fastidiosa* ma con bassa efficienza. Si conclude che la sottospecie *fastidiosa* non causa la malattia dell'olivo, una pianta che può essere considerata un ospite alternativo e sub-ottimale di *Xylella*. L'olivo può essere un rifugio per i vettori di *Xylella* che vengono combattuti radicalmente con mezzi chimici nelle colture di vite e agrumi.

Janse et al., 2012. Riporta una tabella con la segnalazione di specie vegetali da cui sono stati ottenuti ceppi di *Xylella*. Un elenco completo degli ospiti può essere ripreso dal sito <http://www.cnr.berkeley.edu/xylella>. Passa in rassegna i metodi diagnostici usati in COST 873.

IMPORTANTE: la figura 1 riporta sintomi da presenza di *Xylella* su *Citrus sinensis* e *Vitis vinifera* da esperimenti condotti nel corso COST 873. I sintomi sono osservati nelle due specie dopo inoculo con il ceppo LMG 9061, un ceppo non *pauca*. Una rassegna dei metodi PCR per *Xylella* è stata preparata da Doddapaneni et al., (2007). Il metodo MLST è in grado di differenziare tutte le sottospecie (Almeida et al., 2008). Il batterio è in grado di attivare la ricombinazione omologa e per questo solo usando MLST si assegna la sottospecie di *Xylella* con sicurezza.

Joudar, 2016. *Xylella fastidiosa*, organismo regolato da quarantena (annex 1AI della Direttiva 2000/29/CE). Organismo per il quale la lotta è obbligatoria in tutti i luoghi e su tutto il territorio (annex A dell'ordinanza francese del 31 giugno 2000). Organismo di prima categoria (Ordinanza del 15 dicembre 2014).

Lacirignola et al., 2015. Si ritiene che *P. spumarius* sia il vettore e altri due insetti potenziali vettori. *Spy insects*: bioindicatori per la presenza del batterio in aree ritenute libere dal batterio. Sviluppo di metodi rapidi basati sul miglioramento dei test ELISA e PCR (Djelouah et al., 2014; Yaseen et al., 2015).

Lapedota, 2015. 60 milioni di olivi in Puglia, quasi 190 mila aziende delle quali il 64% ha estensioni medie sotto i 2 ha. Riporta una storia dell'accaduto. Nel 2014 il Servizio regionale per la Protezione delle Piante identifica l'area infetta da *Xylella* (decisione 157 del 18. 4. 2014) e comunica il caso al Ministero dell'Agricoltura e alla EU. Il Consiglio dei Ministri dichiara lo stato di emergenza (10 Feb. 2015) e il responsabile della Protezione Civile nomina un Commissionario dell'emergenza nella persona del Gen.G. Silletti (OCPDC 225 dell' 11 feb. 2015). Il Commissario deve elaborare un Piano di intervento. Presso l'EU Standing Committee on Plant Health si sostiene che l'eradicazione per un raggio di 1 Km doveva essere portata a 15 Km. Il piano è approvato il 18 Marzo 2015 e considera le misure elencate nel DM 2777 del 26.9.2014. *P. spumarius* è certamente il vettore del ceppo CoDiRO di *pauca*. Il piano include l'eliminazione delle piante erbacee in primavera e l'uso di insetticidi in autunno.

Legendre et al., 2014. Nel 2012 sono stati individuati in Francia 3 piante di caffè portatrici di *Xylella*. Due ceppi di *Xylella* isolati da queste piante sono stati assegnati a *pauca*. Il terzo a *fastidiosa*.

Legendre, 2016. Giugno 2015: primo ritrovamento in Corsica. Ottobre 2015: primo ritrovamento nella regione PACA. 2012: prima individuazione su caffè intercettato in Francia. 2014: test tra laboratori di validazione del batterio; partecipano al test laboratori di : Italia, Olanda, Nuova Zelanda, Inghilterra, Francia. Due diversi profili di *Xylella fastidiosa* riguardano gli isolati della Corsica e della regione PACA: *Xylella*

subsp. *multiplex*, profilo A (ST7) e profilo B (ST6), diverse da CoDiRO *X. f. subsp. pauca* presente in Puglia.

Loconsole et al., 2016. In Puglia, nell'area dove l'epidemia è in atto, i nuovi foci e le piante infettate dal batterio dimostrano che il ceppo batterico è sempre quello noto come ST53 o CoDiRO. Molte delle specie vegetali infette da *Xylella* sono asintomatiche, o i sintomi si rivelano dopo molti mesi dall'infezione, o sono difficili da usare come indici diagnostici perché i sintomi sono simili a quelli indotti dalla siccità. Dopo la scoperta di *Xylella* in Puglia, piante infette dal batterio sono state riportate a sud di Parigi, 11 intercettate in porti europei, e più recentemente in Corsica. La tassonomia di *Xylella fastidiosa* è complessa essendo dipendente anche dalla ricombinazione omologa attiva in incroci tra specie e sottospecie (Kung e Almeida, 2011). Tre isolati da caffè in Italia del Nord appartengono a sottospecie diverse del batterio, mentre l'isolato già descritto per la Puglia come ST53 è un ceppo di *pauca*. Il *gene flow* via ricombinazione omologa è un importante fattore evolutivo che induce l'emergere di nuove malattie causate dal batterio (Almeda e Nunney, 2015).

Loconsole et al., 2014. Messa a punto di Elisa e PCR per rivelare la presenza di *Xylella* in campioni di tessuti vegetali. Elisa è preferibile per indagini epidemiologiche.

Martelli, 2013. Martelli comunica la presenza di *Xylella* su olivi infetti ma suggerisce che può essere una concausa della malattia perché accompagnata anche da funghi patogenici

Martelli, 2015a. Riassunto dettagliato del caso. Riporta come si è giunti alle misure regionali. Nella fascia cuscinetto (2 Km a ridosso della zona infetta) e nella fascia cordone sanitario (2 Km distanti 10 Km dagli ultimi focolai) sono previsti i seguenti interventi: i) trattamenti insetticidi contro i vettori; ii) interventi agrotecnici contro gli stadi giovanili del vettore e contro le erbe infestanti; iii) eliminazione di tutte le piante ospiti presenti su strade, spartitraffici, fossi, canali, aree verdi; iv) monitoraggio della presenza di *Xylella* su piante ospiti.

Martelli, 2015b. Nell'autunno 2014 l'area infetta era stimata in 10.000 ha e gli olivi ammalati a 1.000.000. Nel 2015, autunno, gli olivi ammalati riguardano un'area di 2300 Km² pari approssimativamente a 230.000 ettari. La scoperta del batterio è riferita per la prima volta da Saponari et al. (2013). *Xylella fastidiosa* non era stato riportato in Europa se non per due casi non confermati su vite nel Kosovo e su mandorlo in Turchia. L'esperienza relativa al batterio nelle Americhe indica che una volta che il batterio entra in un territorio favorevole per clima e per flora adatta, si stabilisce così fermamente da rendere impossibile la sua eradicazione. Nella primavera del 2014 la situazione era tale da rendere impossibile l'eradicazione e l'unico approccio possibile era di contenere l'area di diffusione. Ne è seguita la “saga” dei piani regionali di

intervento che continua tuttora, anche con l'intervento della magistratura. Le varietà di olivo Cellina di Nardò e Ogliarola, quasi esclusivamente coltivate nel Salento, sono suscettibili alla malattia.

Mastrogiovanni, 2015. Quella del Salento non è una foresta ma una monocoltura di olivo. La distinzione è importante perché sono proprio le monocolture che predispongono alle epidemie le coltivazioni agricole. Ma l'autore non accenna al concetto. In generale si deve osservare che l'autore vorrebbe sottoporre le ipotesi dei ricercatori, che si sono interessati del caso riferendosi a *X. f. pauca*, a una stringente e giusta critica scientifica, mentre, nel formulare ipotesi sue o di circoli anti-*Xylella*, non produce dati a sostegno.

Una seconda osservazione: si nota un marcato scetticismo per quanto e cosa gli “scienziati” (almeno alcuni) stanno facendo. L'autore presenta Rodrigo Almeida come esperto mondiale di *Xylella*. Molto elogiativo è invece l'autore verso il Dr Massimiliano Virgilio richiesto di parere sempre sull'ipotesi *Xylella* come causa della malattia, al quale vengono attribuite le parole contro Almeida “evidenze scientifiche deboli”. Almeida ha pubblicato il 70% dei suoi lavori sul batterio *Xylella*, lavori largamente citati (indice HI di 22), mentre Virgilio è un esperto di mosche (insetti inclusi tra i Ditteri; i vettori di *Xylella* sono Emitteri). I contadini curano con successo con i metodi tradizionali le piante con sintomi di disseccamento. Ancora oggi (Aprile 2015) non vi sono certezze sulla *Xylella* come agente causale e sul suo vettore. Nel corso IAMB Almeida propone la causa *Xylella* e il ruolo della sputacchina (ma la nota dell'autrice lo considera poco credibile). Si dilunga sulle opinioni della Giunta regionale e sulla sua delibera contrapposte a quelle della Commissione agricoltura della Camera dei deputati che non si pronuncia sulla causa della malattia. La Commissione giustifica questa sua posizione citando Krugner che in California inietta *Xylella* in olivo e non registra sintomi. La Commissione fa un grave errore: nel lavoro citato (*un rapporto al California Olive Committee*) era stato usato un ceppo di *multiplex*. La Commissione scrive che molti olivi della zona pesantemente infetta generano polloni e nuovi germogli guariti. Il libro si dilunga su esposti presentati alla Procura, uno dei quali suggerisce che il ceppo di *Xylella* può essere sfuggito dai laboratori durante il corso del 2010. Riporta in 4 punti a pag. 28 la procedura da quarantena. I disseccamenti degli olivi nel Salento sono un fenomeno che i contadini registrano dal 2008.

Propone una interpretazione di parte del rapporto EFSA del gennaio 2015, sostenendo che questa agenzia ha affermato che l'eradicazione non ha senso.

Meng et al., 2005. *Xylella fastidiosa* sviluppa un biofilm che blocca il flusso di linfa xilematica. Da chiarire era come il batterio si muovesse nei vasi xilematici contro il movimento della linfa. Il batterio migra via pili di tipo IV con motilità di $5 \text{ microm min}^{-1}$ contro la linfa che scorre a $20.000 \text{ microm min}^{-1}$.

Due mutanti ai loci pilB e pilQ sono difettivi per i pili di tipo IV e non colonizzano la pianta. I mutanti con i pili di tipo I hanno un'aumentata produzione di biofilm, mentre i mutanti con i soli pili di tipo IV producono meno biofilm.

Muranaka et al., 2013. *Xylella fastidiosa* negli agrumi causa la malattia nota come *Citrus Variegated Chlorosis* (CVC). E' stato studiato l'effetto inibitore sulla malattia di N-Acetylcisteina (NAC), un analogo della cisteina utilizzato in medicina umana. Sopra la concentrazione di 1 mg/mL il composto riduce l'adesione del batterio a superfici vetrose, la formazione di biofilm e di EPS. Piante di arancio dolce con sintomi CVC trattate con NAC (0.48 e 2.4 mg/mL) mostrano una remissione dei sintomi associata a riduzione dei batteri. L'uso di NAC in agricoltura può avere interesse per contrastare le infezioni batteriche.

Nigro et al., 2013. Lo scolorimento degli elementi vascolari del legno di olivo era stato segnalato nel 2008 da Carlucci e collaboratori ed associato alla presenza di funghi (Carlucci et al., 2008). Viene riportato la presenza su olivo con sintomi di disseccamento rapido dei funghi del genere *Phaeoacremonium* e *Phaemoniella*. Si segnala per la prima volta la presenza su olivo di *Phaeoacremonium parasiticum* e *Phaeoacremonium alvesii*.

Nunney, 2014. E' stato valutato il ruolo della ricombinazione omologa inter subspecifica nella evoluzione di diversi batteri. Il caso descritto riguarda la comparsa di ceppi di *Xylella fastidiosa* in grado di attaccare il gelso. La malattia *leaf scorch* è stata identificata 25 anni fa in California ed è dovuta a un ceppo di *Xylella* che può essere incluso tra le sottospecie del batterio come *Xylella fastidiosa* subsp. *morus*. La sequenza di geni del nuovo isolato ha, tra i suoi progenitori, *Xylella* subsp. *fastidiosa* (introdotta dall'America centrale) e *Xylella* subsp. *multiplex* (nativa in USA) e il suo stato chimerico è da ricondurre a ricombinazione omologa inter-subspecifica. Il ceppo ha una ridotta variabilità molecolare e poiché *fastidiosa* non era in grado di attaccare il gelso, il passaggio alla patogenicità è stato favorito da una forte selezione sui prodotti della ricombinazione.

Perrino, 2011. Cita moltissimi lavori che andrebbero verificati. Dopo il 2013 Perrino estende il suo parere assolutamente negativo sul glifosate al caso *Xylella* e riconduce il caso all'uso dell'erbicida. Per ora, tuttavia, non sono disponibili in Puglia dati sperimentali sull'uso del glifosato come diserbante dell'olivo e sulla sua relazione con il disseccamento dell'olivo. Il testo riporta i risultati di diversi lavori sul tema del gruppo di Kremer R.J., tutti pubblicati sull' *European Journal of Agronomy*. Una parte prevalente delle pubblicazioni citate è su due sole riviste: *Science in Society* e *The Organic & Non-GMO Report*.

Perrino, 2015. Come tutte le malattie complesse il CoDiRO è causato da più fattori biotici (batteri, funghi, insetti e probabilmente altri patogeni ancora sconosciuti) e più fattori abiotici (abuso di concimi chimici, anticrittogamici o pesticidi, insetticidi, fitofarmaci, erbicidi, diserbanti, disseccanti, fattori climatici avversi, come umidità, temperatura, escursioni termiche, venti, squilibri idrici e altri tipi di stress). Alcuni ricercatori dell'Università di Foggia e della California, sottolineano come il batterio *Xylella fastidiosa* non è sempre presente nei campioni prelevati da alberi con sintomi di CoDiRO o se è presente è sistematicamente associato a diverse specie di funghi presenti solo in Puglia, come per esempio *Phaeoacremonium*

aleophilum, *Phaeoacremonium alvesii* e *Phaeoacremonium parasiticum*, e ad altre tre specie, apparse per la prima volta in Italia, *Phaeoacremonium italicum*, *Phaeoacremonium sicilianum* e *Phaeoacremonium scolyti*, che oltre ad essere più diffuse nel mondo risultano anche più patogeniche. La stessa conclusione è di altri patologi dell'Università di Firenze e Dirigenti del Servizio Fitosanitario della Toscana, i quali, su materiali di olivo del Salento che presentavano sintomi di CoDiRO, hanno rilevato la presenza di attacchi di *Zeuzera pyrina* e la presenza nel legno di alcuni funghi tracheomicotici, *Phaeoacremonium parasiticum*, *P. rubrigenum*, *P. aleophilum*, *P. alvesii*, *Phaemoniella* sp., oltre alla presenza, saltuaria, di DNA di *Xylella fastidiosa*. Riporta i dati di *Xylella* su olivo in California non citando però che si tratta di un ceppo di *X.f. multiplex*. Interpreta l'EFSA a favore della tesi del non intervenire con le eradicazioni. Rimangono inascoltati numerosi olivicoltori salentini che hanno dimostrato che le piante malate se trattate opportunamente, con tecniche agronomiche tradizionali, opportunamente riviste in chiave moderna, nel giro di poco tempo mostrano segnali di ripresa e di guarigione, risultati suffragati anche da una ricca letteratura (questo secondo l'autore). Insiste che le cause del CoDiRO non sono certe e allo stesso tempo insiste che le piante diventano vulnerabili a causa dell'uso e abuso di prodotti chimici che hanno impoverito la microflora del terreno, ridotta quasi a zero la materia organica e depauperata la biodiversità. La soluzione della malattia degli olivi nel Salento, denominata CoDiRO, non è l'estirpazione delle piante malate, ma la loro cura e guarigione attraverso buone pratiche agricole. Aggiunge che un documento firmato da 16 dottori agronomi e forestali della provincia di Brindisi, relativo al contenimento del CoDiRO, individua pratiche utili come l'aereazione della chioma, le regolari potature, le spollonature ed una corretta gestione della fertilità del suolo, adottando tecniche migliorative e conservative della sostanza organica che escludano l'impiego di diserbanti chimici.

Redak et al., 2004. Due malattie causate da *Xylella*, *variegated chlorosis* degli arumi (CVC) e malattia di Pierce (PD) della vite, sono emerse negli ultimi decenni come molto importanti per le perdite economiche che inducono. Per alcune di queste malattie la patogenicità nei nuovi areali colonizzati da ceppi esotici di *Xylella* è la causa di associazioni pianta-patogeno prima non riportate. E' il caso del *Citrus variegated chlorosis*, CVC (Hopkins e Purcell, 2002). La clorosi CVC da *Xylella* è una malattia distruttiva degli agrumi, scoperta per la prima volta in Brasile nel 1987, che attacca tutte le varietà commerciali di arancio dolce. Il recente arrivo e insediamento in California dell'insetto *Homalodisca coagulata* mette in pericolo la gran parte delle coltivazioni USA di vite e di mandorlo. La colonizzazione di *H. coagulata* del sud della California e la diffusione della CVC dall'Argentina al Brasile rendono conto del rischio biologico relativo alle specie esotiche di batteri. La stretta somiglianza genetica tra i ceppi di *Xylella* del caffè e quello del CVC dell'arancio suggerisce la possibilità che il ceppo dell'arancio si sia evoluto di recente dai ceppi del caffè.

Saponari et al., 2013. Viene segnalata per la prima volta la presenza di *Xylella* in olivo con sintomi di disseccamento, in mandorlo e in oleandro.

Saponari et al., 2014. In una recente rassegna su *Xylella* in Europa, si indicano *Cicadella viridis* e *Philaenus spumarius* come potenziali vettori di *Xylella* (Janse e Obradovic 2010).

Il 70% degli insetti *P. spumarius* raccolti nella prima settimana di Novembre sono positivi per la presenza di *X. fastidiosa*. La sequenza dei geni 16S *rDNA* e *gyrB* amplificati via PCR da pervinca è uguale al 100 % alla sequenza del batterio isolato in Puglia dall'olivo. I risultati riportati dimostrano che *P. spumarius*, molto comune e raccolto negli oliveti, ha percentuali di infezione di *Xylella* che raggiungono il 50%.

Saponari, 2015. Le seguenti piante hanno rivelato sintomi da *Xylella*: (i) ciliegio (*Prunus avium*); (ii) *Polygala myrtifolia*; (iii) rosmarino (*Westringia fruticosa*). Tutte le piante sintomatiche analizzate erano infettate dal batterio, come rivelato dai metodi PCR ed ELISA seguendo il protocollo di Loconsole et al. (2014). I prodotti amplificati da 5 geni, utilizzando anche due *primers* ceppo specifici disegnati per *Xylella*, sono stati sequenziati. Tutti hanno il 100% della loro sequenza identico agli omologhi amplificati in Puglia da olivi infetti (Cariddi et al., 2014). Con l'eccezione del ciliegio per il quale in California è stata riportata una infezione da *Xylella* subsp. *fastidiosa* (Hernandez-Martinez et al., 2007), *P. myrtifolia* e *W. fruticosa* non erano note come ospiti del batterio.

Simpson et al., 2000. Il genoma consiste di 2.679.305 bp dove il cromosoma circolare ha il 52,7% di sequenze ricche di GC ed è accompagnato da due plasmidi di 51.158 e 1.285 bp. Al 47% delle 2.904 unità codificanti è stata assegnata una funzione putativa. I meccanismi associabili alla patogenicità del batterio per le piante consistono di tossine, antibiotici e di sistemi di sequestro di ioni, nonché di proteine che mediano i rapporti pianta-batterio e batterio-batterio. Geni ortologhi che codificano per alcune di queste proteine sono stati identificati in patogeni umani e animali e la loro presenza in *Xylella* indica che la base molecolare della patogenicità del batterio è guidata dal suo genoma ed è indipendente dalla pianta ospite. Almeno 83 geni di *Xylella* derivano da batteriofagi, il caso di geni per la virulenza derivanti da altri batteri, una prova diretta del trasferimento orizzontale di geni mediato dai fagi. *Citrus variegated chlorosis* (CVC) è una malattia degli agrumi molto distruttiva scoperta per la prima volta in Brasile nel 1987, che attacca tutte le varietà commerciali di arancio dolce. Nel 1993 fu identificato un ceppo di *Xylella fastidiosa* come responsabile dell'agente causale, e il batterio nel 1996 venne associato alla diffusione mediata da un *sharpshooter leafhoppers*. Altri ceppi di *Xylella* causano malattie economicamente importanti come *Pierce's disease* della vite, nanismo dell'erba medica, *phony disease* del pesco, appassimenti della pervinca, *leafscorch* della susina, e *Xylella* è perlomeno associata ad altre malattie del pero, gelso, mandorlo, acero, quercia, noce pecan e caffè. Il ceppo patogenico 9a5c sequenziato è stato ottenuto nel 1992 a Bordeaux (Francia) da un germoglio di arancio dolce raccolto a Macaubal (São Paulo, Brasile) nel 1992. Il ceppo 9a5c inoculato in arancio produce i sintomi CVC.

In planta il batterio è contenuto entro una matrice extracellulare translucida. Grumi batterici si formano nei vasi dello xilema bloccandoli e causando i sintomi da stress da carenza di acqua. La matrice è, almeno sulla base del sequenziamento, composta da polisaccaridi extracellulari (EPSs) sintetizzati da enzimi simili a

quelli di *Xanthomonas campestris* pv *campestris* (Xcc) che producono una gomma (*xanthan gum*). La gomma di *Xylella* potrebbe essere meno viscosa di quella di *Xanthomonas*. Il cluster 21 di geni *rpf* di *Xanthomonas* (*regulation of pathogenicity factors*) codifica per proteine regolatrici della sintesi di enzimi extracellulari e di EPS. *Xylella* ha geni codificanti per RpfA, RpfB, Rpf C e RpfF, una indicazione che entrambi i batteri possono regolare la sintesi di fattori patogenici EPS.

Stancanelli et al., 2015. *Xylella* infetta piante di almeno 68 famiglie (mono- e dicotiledoni, 3 di Gimnosperme), 187 generi e 300 specie. Le malattie da *Xylella* sono trasmesse da insetti che si nutrono di linfa xilematica. Le superfamiglie sono Cercopoidea (*spittlebugs o froghoppers*), Cicadoidea (cicadine) e Membracoidea (include una sola specie che si nutre dallo xilema, una Cicadelina). Tutte le specie americane sono assenti in Europa (*P. spumarius* origina in Europa ed è stato introdotto in America). In USA sono presenti 68 specie di *Shapshooters* (7 in Europa), 6 di *Spittlebugs* (34 in Europa) e 2 di Cicadine (54 in Europa).

Conclusioni della valutazione ESFA del rischio. Il Panel *Plant health* dell'ESFA ha concluso che i vettori della malattia sono piante che da vivai si diffondono per trasporto in aree olivicole e gli insetti. Incertezze derivano dalla poca conoscenza della distribuzione e dei sintomi del batterio nelle piante coltivate nei luoghi di origine del batterio stesso. Dopo che il batterio è entrato in una nuova area geografica, il batterio vi si stabilisce a causa della sua capacità di infettare molte specie di piante. La probabilità di espandersi di questo batterio dopo il suo arrivo è anche molto elevata, sempre a causa dei molti ospiti e delle popolazioni dei vettori. Le conseguenze della presenza del batterio in Puglia rappresentano un grave pericolo per l'intera Europa.

Yaseen et al., 2015. Illustra un metodo (real-time LAMP) che usa componenti portatili (Smart-Dart *device*) e può essere usato direttamente in campo. La connessione a uno Smartphone visualizza i risultati in tempo reale. Analizza campioni di piante e di insetti per la presenza di *X. fastidiosa*.

Yang et al., 2014. Nella *Pierce's Disease* (PD) della vite causata da *Xylella fastidiosa*, si possono osservare tralci apparentemente sani contigui ad altri pesantemente infetti. Il lavoro ha valutato se la differenza potesse dipendere da cause diverse dalle genetiche, più specificamente a differenze nel microbioma. Si è così cercato di individuare gli organismi endofitici che vivono nella pianta della vite. In un esperimento di 3 anni, il sequenziamento di sequenze di DNA contigue a geni ribosomali amplificate dalla comunità endofitica rivela differenze tra piante ammalate e piante senza sintomi. Sono stati isolati e coltivati 180 specie di funghi, dei quali 8 hanno un effetto antagonistico verso *X.f.*, di cui 4 riducono il titolo del batterio e la severità dei sintomi in esperimenti su piante allevate in serra. Sono stati anche isolati, dai funghi antagonisti, sostanze naturali con azione antagonista contro *Xylella*.

Allegato E. Note da documenti dell'*European food safety authority*, EFSA

EFSA, 2015a. Viene prodotto un elenco delle piante ospiti di *Xylella* focalizzando l'attenzione su piante commercializzate e sulle coltivazioni delle stesse in aree infette. La definizione di pianta ospite si basa sulla determinazione dello stato di infezione naturale confermato almeno da due metodi di determinazione della presenza del batterio.

EFSA PLH Panel, 2015b. *Xylella* può colonizzare molte specie vegetali ospiti, sia coltivate che spontanee. *Philaenus spumarius*, un emittente polifago molto comune nell'area pugliese infetta, è il principale vettore dell'infezione. Il rischio che il batterio entri in nuovi areali attraverso lo spostamento e importazione di piante, specialmente ornamentali, è molto alto, più basso se il batterio è veicolato dai vettori presenti su piante commerciate. La probabilità che il batterio si stabilisca in Europa è molto alta e le conseguenze gravi per la perdita di prodotti agricoli e per le spese di contenimento dell'infezione. Inoltre, l'uso di pesticidi per controllare il vettore avrà un forte impatto ambientale. Le strategie di prevenzione devono basarsi sul controllo delle piante utilizzate per nuovi impianti e sul contenimento del vettore, combinando le procedure in un approccio integrato: i) piante da trapianto prodotte in zone dove il batterio è assente, sorveglianza e certificazione, monitoraggio, e, per piante con dimensione ridotta, eventuale termoterapia o trattamenti antibatterici; ii) ispezioni e trattamenti insetticidi. Il Panel raccomanda di intensificare la ricerca sulle piante ospiti, sull'epidemiologia, sul controllo e confinamento locale.

EFSA PLH Panel, 2015c. La vite non è un importante ospite di *X.f. pauca* ceppo CoDiRO.

EFSA PLH Panel, 2016a. Introduce l'argomento delle cure a piante malate sulla base di due serie di esperimenti condotti in Puglia, più precisamente dal Prof. Scortichini e dal Dr. i Carlucci e Lops. Produce un *assessment* basato su interviste degli scienziati coinvolti o su loro documenti preliminari. Entrambi i gruppi ritengono che i loro dati necessitano di un altro anno di conferma. In condizioni di campo vengono usati diverse concentrazioni di rame e zinco, mentre il ricorso a sostanze bioattive è allo stato sperimentale. I trattamenti in combinazione con cure agronomiche adatte si traducono in un maggior vigore vegetativo delle piante di olivo infette, ma dopo il trattamento il batterio persiste nei tessuti trattati. Al momento non esistono cure in grado di eliminare il batterio dai tessuti dove la *Xylella* è presente. Il Panel riconosce che questo approccio può prolungare la vita produttiva di piante infette. Sono necessari studi specifici, da condurre nel lungo periodo, relativi a trattamenti di piante malate. Una rassegna bibliografica degli interventi contro le infezioni da batteri considera i) antibiotici; ii) bio-attivatori delle resistenze endogene; iii) composti che stimolano la crescita della pianta; iv) antagonisti batterici e fungini; v) trattamenti a base di rame; vi) trattamenti combinati a buone cure agronomiche. I trattamenti con antibiotici contro *Xylella* (viene citata una lunga serie di pubblicazioni relative, per esempio, alla vite) non eliminano il batterio. Lo stesso può essere

concluso per rame e zinco. I due gruppi intervistati hanno utilizzato l'uno formulazioni commerciali di prodotti il cui uso è permesso e l'altro un prodotto contenente Zn (4%) e Cu (2%) in soluzioni di acido citrico. Relativamente agli esperimenti di Carlucci e Lops, il Panel ha considerato che nella *Pierce's disease* della vite una potatura severa può condurre a nuove branche che non mostrano sintomi della malattia se non dopo anni. Tuttavia, la riportata combinazione di buone pratiche colturali e dei trattamenti non permette di chiarire il ruolo delle singole misure. Entrambi i gruppi riportano che i loro esperimenti sono rivolti all'eliminazione dei sintomi e non dei batteri.

Il Panel conclude: i) L'esperienza in vite dimostra che i trattamenti simili a quelli adottati in Puglia non eliminano la malattia. Possono però proteggere la pianta da altri funghi. ii) *In vitro* alcuni dei composti citati sono efficaci ma mancano evidenze da trattamenti di piante intere in pieno campo. Zinco e antibiotici possono essere efficaci ma necessitano di continue loro iniezioni per portarli a contatto con il batterio. Inoltre, per ora gli antibiotici antibatterici non sono permessi per trattamenti a vegetali in campo. iii) Il Panel riconosce l'effetto positivo delle buone pratiche colturali sullo sviluppo della malattia. iv) Dopo i trattamenti le piante rimangono comunque infette. v) Il Panel ritiene che il numero dei trattamenti esogeni utilizzati debba essere per molti motivi ridotto. vi) Raccomanda di considerare anche l'effetto nel lungo periodo di ripetuti trattamenti con rame e zinco.

EFSA, 2016b. *Xylella fastidiosa* è responsabile della malattia che sta distruggendo gli olivi nell'Italia meridionale. Anche l'oleandro e la poligala a foglia di mirto soccombono al ceppo pugliese del batterio, mentre gli agrumi, la vite e il leccio sembrano resistergli. Le risultanze sono desunte da indagini effettuate negli ultimi due anni in Puglia sulle piante ospiti della *Xylella* ceppo CoDiRO. Gli scienziati del Consiglio Nazionale delle Ricerche, tramite inoculo artificiale ed esposizione in campo a insetti vettori infetti, hanno messo a contatto il batterio con importanti varietà di colture perenni come l'olivo, la vite, gli agrumi, il mandorlo, il pesco, il ciliegio e il susino, ma anche il leccio, l'oleandro e la poligala mirtifoglia. G. Stancanelli, direttore dell'unità EFSA "Salute animale e vegetale", ha dichiarato: questi risultati confermano che il ceppo CoDiRO di *Xylella* provoca il deperimento dell'olivo. "*Potremo ora valutare con precisione il rischio che l'epidemia si diffonda a partire dalla Puglia*". Le piante di olivo inoculate hanno gravi sintomi di disseccamento e deperimento simili a quelli di piante in campo attaccate dal batterio. Sembra inoltre che il batterio impieghi più tempo ad infettare le varietà Coratina, Leccino e Frantoio rispetto alla Cellina di Nardò. *Philaenus spumarius* trasmette il batterio all'olivo, all'oleandro e alla poligala. L'infezione si nota sei mesi dopo l'esposizione delle piante all'insetto, quando le stesse sono ancora asintomatiche. Agrumi, vite e leccio non rivelano dopo inoculo la presenza del batterio. Stancanelli ha poi aggiunto: "*I risultati di questo progetto riducono in modo significativo le incertezze che circondano i rischi per il territorio dell'UE collegati al ceppo CoDiRO di Xylella e contribuiranno a pianificare le ricerche future*".

EFSA, 2016c. Nel 2015 EFSA ha pubblicato un elenco delle piante ospiti di *X. fastidiosa*. Sempre nel 2015, EFSA (EFSA, 2015b) ha prodotto un update aggiungendo 36 nuove specie. La Commissione Europea ha poi

chiesto ad EFSA di rivedere la materia con particolare riferimento alle piante ospiti del ceppo pugliese CoDiRO. Il risultato del lavoro integra la lista di piante ospiti pubblicata da EFSA il 20 Marzo 2016 (EFSA-Q-2015-00168). Cita recenti comparse del batterio in Europa: Puglia, Corsica, Francia del sud. In tutto sono elencate 369 specie ospiti di *Xylella* appartenenti a 204 generi e 75 famiglie botaniche. La maggioranza delle nuove specie proviene dalla Puglia, Corsica e Francia del Sud. Gli ospiti suscettibili a *pauca* dopo infezione artificiale sono 5: *Olea europea*, *Catharanthus roseus*, *Nerium oleander*, *Polygala myrtifolia*, *Coffea arabica*. Dopo infezione naturale 26 (*Olea europea*, *Catharanthus roseus*, *Nerium oleander*, *Polygala myrtifolia*, *Coffea arabica*, *Coffea* sp., *Vinca minor*, *Asparagus acutifolius*, *Cistus creticus*, *Euphorbia terracina*, *Acacia saligna*, *Spartium junceum*, *Lavandula angustifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Westringia fruticosa*, *Westringia glabra*, *Eugenia myrtifolia*, *Polygala myrtifolia*, *Grevillea juniperina*, *Rhamnus elaternus*, *Prunus avium*, *Prunus dulcis*, *Citrus sinensis*, *Citrus* sp., *Dodonea viscosa purpurea*, *Myoporum insulare*). *Multiplex* può infettare naturalmente l'olivo.

EFSA PLH Panel, 2016d. Questo documento più di altri ha un valore informativo che illustra dettagliatamente la posizione EFSA sul caso *Xylella* (e quindi la posizione della Commissione Europea). Per questo viene qui presentato un suo lungo riassunto.

La pubblicazione originale e la relativa bibliografia, parte della quale è citata nel riassunto, è ottenibile al link: <http://www.efsa.europa.eu/it/efsajournal/pub/4450>

Membri del Panel.

Sono 21, tutti scienziati di riconosciuto valore a livello internazionale: Claude Bragard, David Caffier, Thierry Candresse, Elisavet Chatzivassiliou, Katharina Dehnen-Schmutz, Gianni Gilioli, Jean-Claude Grégoire, Josep Anton Jaques Miret, Michael Jeger, Alan MacLeod, Maria Navajas Navarro, Bjoern Niere, Stephen Parnell, Roel Potting, Trond Rafoss, Vittorio Rossi, Gregor Urek, Ariena Van Bruggen, Wopke Van Der Werf, Jonathan West e Stephan Winter.

Opposizione.

E' espressa da gruppi locali di Lecce contro la strategia di controllo della Comunità europea (Decisione EU 2015/7893). Si è manifestata in forma di appello alla Corte Europea di Giustizia. Le posizioni degli oppositori sono elencate di seguito insieme ai *terms of reference* assegnati da EFSA al Panel. 1. In Puglia le popolazioni di *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* sono eterogenee a causa dei diversi ceppi presenti. *Is there any scientific conclusive evidence for such a statement?* 2. CoDiRO non dipende solo dalla presenza di *Xylella fastidiosa* o di altri funghi che colonizzano i vasi xilematici, ma anche da altri fattori, come grado di compattamento del suolo, livello di sostanza organica del terreno, biodiversità della micro-fauna terricola, salinizzazione del terreno, concentrazione di glifosate (o di altri agenti chimici tossici), concentrazione di elementi nutritivi, includendo anche potature, arature e altre pratiche agronomiche. *Is this statement in agreement with current scientific knowledge?* 3. Non è sicuro che *Xylella fastidiosa* sia il solo agente causale della morte delle piante. *Can EFSA provide an update? Please advise whether this would affect the risk of Xylella fastidiosa for the rest of Union?* 4. L'eliminazione delle piante infette non è la soluzione, come

dimostrato in USA, Brasile e Taiwan. La rimozione delle piante ospiti in un raggio di 100 m attorno alle piante infette (EU 2015/789) per i focolai fuori dalla provincia di Lecce non è basata su prove scientifiche. *Can EFSA assess the level of prevention of further spread of Xylella fastidiosa in areas not yet infected? Can EFSA advise on the efficacy of removing infected plants located in the 'containment area' to prevent further spread? Can EFSA advise about the efficacy of removing host plants in proximity of recently detected infected plants in areas where the bacterium was not known to occur?* 5. Sarebbero disponibili metodi di trattamento in pieno campo per le piante ammalate, come da esperimenti del Prof. Marco Scortichini (CREA, Caserta) e del Prof. Francesco Lops e Dr. Antonia Carlucci (Università di Foggia). *Can EFSA contact these researchers and assess the outcome of these on-field experiments? Can EFSA provide an update on treatment solutions, scientifically validated, to cure diseased plants?* 6. Nella rivista EFSA Journal (2015, 13:3989) si fa riferimento a *'L'uso intensivo di insetticidi per limitare l'insetto vettore può modificare le reti trofiche con effetti a cascata . Inoltre, i trattamenti con insetticidi fatti su larga scala pongono a rischio la salute umana e animale; l'uso degli insetticidi può stimolare l'emergenza di resistenze e i trattamenti possono e condurre alla riduzione di nemici naturali del vettore'*. *Can EFSA clarify this matter in relation to the phytosanitary treatments to be carried out prior to the removal of plants against the vectors of Xylella fastidiosa and plants that may host those vectors?*

Il Panel considera nel documento solo i punti 2, 3, 4 e 6. Le domande alle quali viene data risposta sono i) quali fattori controllano la sintomatologia osservabile e la diffusione di *X. fastidiosa*; ii) la causa eziologica della malattia CoDiRO; iii) eliminazione delle piante ospiti come opzione per il contenimento o eradicazione ; iv) effetti secondari dei pesticidi, diserbanti inclusi.

Posizioni del Panel.

Xylella fastidiosa subsp. *pauca* è l'agente causale del CoDiRO. I sintomi sono dovuti a stress da carenza di acqua dovuta a occlusione dei vasi xilematici. Gli interventi che migliorano lo stato vegetativo della pianta prolungano la sua fase produttiva ed estendono la fase asintomatica della malattia. La rimozione delle piante infette è la sola opzione che previene la comparsa del parassita in nuove aree. Nell'area di contenimento contigua alla zona *buffer*, la rimozione delle piante infette e il monitoraggio potrebbero prevenire la diffusione del patogeno. Nei nuovi focolai, la rimozione radicale di piante ospiti di *Xylella*, siano esse infette o non infette, entro il raggio definito dalla regolamentazione EU può essere efficace. La riduzione delle popolazioni del vettore usando metodi chimici, biologici, approcci meccanici o altre procedure sostenibili, può contribuire ad abbassare la diffusione del batterio. Non si ha evidenza di effetti negativi dei pesticidi nell'interazione di *Xylella* con le piante di olivo, né con la severità dei sintomi e l'insorgenza dell'infezione.

Commenti specifici

(i). Non è possibile quantificare gli effetti sul CoDiRO dell'ambiente in senso generale, della composizione del suolo e dei trattamenti con erbicidi-insetticidi. Malgrado la possibile rilevanza di fattori secondari che contribuiscono anche all'alleviamento della malattia, il rischio dovuto alla presenza di *Xylella* per il resto dell'Europa è grave . E' infatti dimostrato che questo batterio è l'agente causale della malattia.

Xylella viene diffusa dai vettori che succhiano i liquidi xilematici (Almeida *et al.*, 2005; Almeida e Purcell, 2006; Chatterjee *et al.*, 2008; Daugherty e Almeida, 2009; Daugherty *et al.*, 2009; Backus e Morgan 2011; Killiny e Almeida, 2014). In Puglia, la sputacchina *Philaenus spumarius* si ritrova abbondantemente ed è accertato essere un vettore di *Xylella* (Elbeaino *et al.*, 2014; Saponari *et al.*, 2014). I dati sul ruolo, nell'epidemia dell'olivo, di altre specie di piante ospiti non sono sufficienti ma, accertato l'ampio spettro di infettività di *Xylella*, è corretto considerare che un *continuum* di specie ospiti accentui la diffusione della malattia. La presenza di *Xylella* nei vasi xilematici è, per un lungo periodo, asintomatica in certe specie e in altre sempre asintomatica (Purcell e Saunders, 1999, Hopkins e Purcell, 2002, Harris *et al.*, 2014). Le piante asintomatiche sono una riserva di batteri e di inoculo infettivo dei vettori. Il vettore preferisce piante in ottimo stato vegetativo, piante senza sintomi (Daugherty *et al.*, 2011). Non è noto se la rimozione di rami infetti di olivo ha effetti positivi sull'eliminazione dei batteri. La potatura è risultata efficace nel caso di CVC in Brasile (do Amaral *et al.*, 1994), ma è stata rigorosamente adottata all'inizio dell'infezione e integrata da altre misure di contenimento. Nelle piante sintomatiche la potatura non riduce la concentrazione dei batteri (Holland *et al.*, 2014). Potrebbe invece favorire lo sviluppo di germogli più vigorosi e infetti che attraggono i vettori che si infettano (Marucci *et al.*, 2004). Gli insetti vettori di *Xylella*, particolarmente negli stadi immaturi giovanili, frequentano piante erbacee, comportamento verificato anche per *P. spumarius* nelle zone olivicole pugliesi (Cornara e Porcelli, 2014). Come dimostrato per la *Pierce's disease* della vite (Black e Kamas, 2007), la gestione del suolo può influenzare le associazioni vegetali favorevoli a *Xylella* e ai suoi vettori.

(ii). Il Panel conclude che esperimenti recenti (Saponari *et al.*, 2016) dimostrano che l'isolato 'De Donno' causa i sintomi CoDiRO nell'olivo e che è l'agente causale della malattia. Il ritrovamento di *Xylella* sull'olivo è sufficiente per assegnarli la categoria di rischio indicata nel 2015 dal Panel EFSA. La presenza in Argentina nel 2013 di *Xylella* subsp. *pauca* in piante di olivo disseccate (Haelterman *et al.*, 2015), la conferma del patogeno in piante di olivo con *leaf scorching* in Brasile (Colhetta-Filho *et al.*, 2016), e il ritrovamento e l'identificazione *Xylella* subsp. *pauca* in olivi pugliesi affetti da CoDiRO (Saponari *et al.*, 2013), confermano che l'olivo è una pianta ospite di questo patogeno. In California, Krugner *et al.* (2014), hanno isolato *Xylella* subsp. *multiplex* da olivi sintomatici e hanno inoculato meccanicamente il ceppo isolato in vite e mandorlo. In mandorlo sono stati osservati i sintomi della malattia, mentre in olivo *Xylella* era presente nelle piante solo dopo alcuni mesi dall'inoculo e in assenza di sintomi. Gli autori citati non sono quindi stati capaci di confermare *Xylella* subsp. *multiplex* come agente causale del *leaf scorch* degli olivi californiani (Krugner *et al.*, 2010, 2014). La trasmissione di *Xylella* da olivo a altre specie via *P. spumarius* è dimostrata (Saponari *et al.*, 2014). Recenti esperimenti di inoculazione meccanica dell'olivo con culture pure di *Xylella* hanno prodotto evidenza della trasmissione e infezione del batterio (Saponari *et al.*, 2016) che risultano in appassimenti e morte di rami di olivo (esperimenti del Dicembre 2014 relativi all'isolato De Donno di *Xylella* subsp. *pauca*, che provano per questa malattia il postulato di Koch). Solo dopo 12 mesi le piante inoculate hanno mostrato il sintomo di accartocciamento fogliare, seguito poi da severi disseccamenti e rami morti. Il batterio è stato re-isolato dalle piante sintomatiche prima inoculate e allevato *in vitro* in

colture pure. Il postulato di Koch è provato ma il Panel ritiene anche che la sola presenza di *Xylella* in olivo è sufficiente per assegnare il rischio inerente al batterio al livello definito nel 2015 dal Panel EFSA.

(iii). Nella situazione epidemica del Sud Italia, caratterizzata da una zona di *containment* demarcata dai due mari che la fiancheggiano e da una zona *buffer* dove il batterio si propaga – il fronte dell'epidemia – le misure degli art. 6 e 7 possono rallentare l'avanzamento del batterio in aree non infette. La *containment area* secondo l'articolo 7 corrisponde a quella dove *Xylella* è ritrovata. La norma impone di rimuovere le piante infette presenti entro una distanza di 20 km (*buffer zone*) dal bordo della *containment area*. In molti casi l'eliminazione di piante infette è accompagnata da altre misure. Malgrado questo, l'epidemia di *Xylella* su agrumi e vite è aumentata in USA e Brasile (Lopes *et al.*, 2000; Purcell, 2013). Tuttavia, gli interventi menzionati sono stati messi in atto quando la malattia era già ben stabilita nell'area considerata. L'eliminazione delle piante deve perciò essere effettuata nei primissimi stadi dell'epidemia (de Boer and Boucher, 2011; Gordillo *et al.*, 2012; Behlau *et al.*, 2014). Una misura importante riguarda l'intensità del monitoraggio della malattia per identificare gli stadi molto precoci del suo sviluppo. Per monitorare *Xylella* in olivo, le infezioni di piante asintomatiche sono un problema perché richiedono tecniche analitiche sensibili. In effetti, l'Art.7 prescrive di campionare e analizzare le piante ospiti entro 100 m di radio attorno alle piante infette già rimosse, interventi da effettuare a intervalli di tempo regolari. La definizione del raggio è pratica comune nei casi di eradicazione. L'eliminazione delle piante ospiti dell'agente causale è misura largamente accettata per eradicare un agente patogeno (Mumford, 2006; Thomson, 2006; Sosnowski *et al.*, 2009; Belasque *et al.*, 2010; de Boer and Boucher, 2011; Filipe *et al.*, 2012; Gordillo *et al.*, 2012; Palacio-Bielsa *et al.*, 2012; Sosnowski *et al.*, 2012; Bennett *et al.*, 2013; Su *et al.*, 2013; Behlau *et al.*, 2014; Cunniffe *et al.*, 2014 and 2015; Gottwald and Graham, 2014; MacMaster *et al.*, 2015; NTG, 2015; Rimbaud *et al.*, 2015). I fattori epidemiologici da considerare sono molti (Pluess *et al.*, 2012), particolarmente il grado di invasione del patogeno dipendente dal numero e densità dei siti infetti, inclusa la tempistica degli interventi adottabili. In situazioni dove l'agente si è ben stabilito la sola strategia è il contenimento, mentre nei casi di introduzione recente l'eliminazione delle piante infette e delle specie ospiti, sane o infette, può risultare nell'eradicazione del patogeno e della malattia.

(iv). Relativamente all'uso di prodotti applicati alle piante, e malgrado i loro effetti collaterali negativi, il Panel conclude che deve essere adottato un approccio globale adatto alle specifiche situazioni locali. I nuovi foci di *Xylella* sono sempre collegabili alla presenza di insetti vettori. In Puglia, poche specie di sputacchine sono state segnalate positive per la presenza di *Xylella* nell'area infetta: *Euscelis lineolatus*, *Neophilaenus campestris* e *P. spumarius*. Solo l'ultima specie è provato essere in grado di trasmettere il patogeno (Elbaino *et al.*, 2014; Saponari *et al.*, 2014). Le misure di controllo che dovrebbero essere in atto nella zona infetta di Lecce fanno riferimento al Ministero dell'Agricoltura italiano (DM No 2777 del 26 Settembre, 2014), come messe in atto nell'area sotto sorveglianza del servizio fitosanitario della Regione Puglia (Risoluzione 1842, Regione Puglia, 5 Settembre 2014). Le misure includono l'uso di insetticidi contro i vettori e le agrotecniche per sopprimere gli stadi ninfali del vettore su piante infestanti e l'eliminazione delle piante infette. Per quanto riguarda la Commissione Europea e la sua *Implementing*

Decision (8) in essere, entrambi gli art. 6 e 7 dedicano il comma 4 ai trattamenti fitosanitari recitando: ‘*The Member State (MS) concerned shall carry out appropriate phytosanitary treatments prior to the removal of plants referred to in paragraph 2 against the vectors of the specified organism and plants that may host those vectors. Those treatments may include, as appropriate, removal of plants*’. In questo contesto gli appropriati trattamenti fitosanitari dovrebbero includere misure di controllo chimico e non (incluse misure di controllo biologico), così come la gestione della vegetazione, come concluso dal PLH Panel risk assessment (2015) relativo particolarmente a operazioni in pieno campo.

Ciascun Stato membro può trovare nella regolazione europea il supporto necessario per definire la più appropriata strategia fitosanitaria e una valutazione dei pesticidi da utilizzare. Il Panel ritiene che l’uso appropriato di prodotti in accordo a quanto prescritto dalle procedure sia nei nuovi foci della malattia che nella buffer zone è una pratica con effetti significativi sulle popolazioni dei vettori.

Saponari e Boscia, 2015. La vite non viene infettata da *Xylella* subsp. *pauca*, ceppo CoDiRO. Le inoculazioni artificiali funzionano bene sugli ospiti di *pauca* ma non su vite, sulla quale si amplificava dopo 9 mesi il DNA del batterio solo al punto di inoculo. Nelle stesse condizioni il batterio si diffonde nell'olivo. Esistono caratteristiche differenze tra sottospecie di *Xylella* per quanto riguarda il range delle piante ospiti (Hernande-Martinez, 2007). Questo è molto importante perché l'identificazione e l'assegnazione dei ceppi offre significative indicazioni per la lotta contro la diffusione dei batteri.

Saponari et al., 2016. Il ceppo CoDiRO è più simile a ST53 del Costa Rica. Sintomi come quelli italiani sono stati osservati in Argentina e Brasile causati dalla presenza sull'olivo di ceppi di *Xylella* ssp. *pauca* ma distinti dall'isolato salentino. *Pauca* è l'agente causale di CVC degli agrumi e degli appassimenti del caffè. Viene riportato un elenco degli ospiti del batterio. La procedura per l'inoculo sperimentale è stata definita in collaborazione con Almeida e Purcell. Vengono condotti esperimenti in serra e in *screenhouse*, il secondo a Gallipoli. Piante di olivo sono anche state esposte all'infezione naturale.

Esperimenti in serra. Sono state inoculate piante di olivo, oleandro, poligala, mandorlo ciliegio (ospiti noti) e in aggiunta quercia, vite, agrumi, altre drupacee. *Olivo.* Si sono notate differenze varietali nel titolo del batterio dopo inoculo. Il batterio è assente nel controllo non inoculato. Il batterio è isolabile dalle piante inoculate. I primi sintomi si notano dopo 12 mesi su Cellina di Nardò e dopo 14 mesi anche su altre varietà. L'evoluzione dei sintomi è simile a quella delle piante in campo. *Oleandro e poligala.* Il batterio è presente e i sintomi di malattia si notano a partire da 10 mesi dall'inoculo. *Agrumi:* non mostrano sintomi dopo inoculo del ceppo CoDiRO. Lo stesso per la vite.

Esperimenti in screenhouse. L'alternanza della temperatura nelle diverse stagioni sembra aver ridotto drasticamente la presenza del batterio inoculato. Lo stesso per oleandro e poligala.

Infezioni naturali con il batterio veicolato da *P. spumarius*. Il batterio si riproduce in olivo, oleandro, poligala. Non si riproduce in *Quercus ilex*, in vite, negli agrumi.

Sopraluoghi in campo. Nel primo sito sotto controllo, inizialmente il batterio era presente su 3 piante (2,7 % di tutta l'area); dopo 2 anni era presente su 59 alberi (52,7 %). Nel secondo sito le piante sono aumentate da 1 a 66 a 220 quando monitorate a marzo 2015, a luglio 2015, a dicembre 2015.

Allegato F. Bibliografia

- Almeida R. et al., 2008.** Genetic structure and biology of *Xylella fastidiosa* strains causing disease in citrus and coffee in Brazil. *Appl- Envir. Microbiology*, 74:3690.
- Almeida R. e Nunney L., 2015.** How do plant diseases caused by *Xylella fastidiosa* emerge? *Plant disease* 99: 1457.
- Almeida R., 2016.** Historique de l'épidémie causée par *Xylella fastidiosa* en Californie et stratégies de lutte mises en place. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Présentations effectuées au séminaire "*Xylella fastidiosa*" du 10 mars 2016.
- Barba M., 2016.** Quick decline syndrom of olive caused by *Xylella fastidiosa* in Italy: state of art and control strategies Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Présentations effectuées au séminaire "*Xylella fastidiosa*" du 10 mars 2016.
- Blackburn S., 2011.** Le grandi domande. Filosofia. Trad. A. Migliori. Edizioni Dedalo, Bari.
- Ben Moussa I. E., 2014.** Investigation on the presence of *Xylella fastidiosa* in putative insect vector(s) in Apulia. Tesi master, anno accademico 2013-2014, Centre International de Hautes Etudes Agronomiques Méditerranéennes, Bari.
- Bergsma-Vlami M., et al., 2015.** *Xylella fastidiosa* in *Coffea arabica* ornamental plants imported from Costa Rica and Honduras in the Netherlands. *J. Plant Pathology* 97:395.
- Black M.C. and Kamas J.S., 2007.** Assays of Texas Vineyard Soils for Effects on Pierce's Disease of Grape. Proceedings of Pierce's Disease Research Symposium, 12–14 December 2007, San Diego. P. 228. Available from <https://www.cdfa.ca.gov/pdcp/Research.html>
- Bleve G., et al., 2016.** Molecular characteristics of a strain (Salento-1) of *Xylella fastidiosa* isolated in Apulia (Italy) from an olive plant with the quick decline syndrome. *Phytopathologia Mediterranea* 54, temp75–82.
- Boscia D., et al., 2014.** Il caso del disseccamento rapido dell'olivo: sintomatologia ed eziologia. I georgofili. Quaderni 2014. 10 pp.
- Bosco D., 2016.** Prévalence et biologie des vecteurs de *Xylella* en Italie et rôle dans la dispersion de la maladie Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Présentations effectuées au séminaire "*Xylella fastidiosa*" du 10 mars 2016.
- Bosso L., et al., 2016.** Potential distribution of *Xylella fastidiosa* in Italy: a maximum entropy model. DOI: 10.14601/Phytopathol Mediterr-16429
- Bragard C., 2016.** What is the risk of *Xylella* for Europe? Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Présentation effectuées au séminaire "*Xylella fastidiosa*" du 10 mars 2016.
- Cariddi C., et al., 2014.** Isolation of a *Xylella fastidiosa* strain infecting olive and oleander in Apulia, Italy. *Journal of Plant Pathology* 96, 1–5.

- Carlucci A., et al., 2015.** *Phaeoacremonium* species associated with olive wilt and decline in southern Italy. Eur J Plant Pathol (2015) 141:717–729.
- Carlucci A. et al., 2013.** Has *Xylella fastidiosa* “chosen” olive trees to establish in the Mediterranean basin? Phytopathologia Mediterranea 52: 541 4.
- Carlucci A., 2013.** *Pleurostomophora richardsiae*, *Neofusicoccum parvum* and *Phaeoacremonium aleophilum* associated with a decline of olives in southern Italy Phytopathologia Mediterranea 52: 517.
- Carlucci A. et al., 2008.** Comportamento patogenico di alcuni isolati fungini associati a striature brune del legno di olivo. Petria 18: 15.
- Chatterjee et al., 2008.** Living in two worlds: the plant and insect lifestyles of *Xylella fastidiosa*. Annu. Rev. Phytopathol. 46: 243.
- Chauvel L., et al., 2015.** Mission d'expertise sur *Xylella fastidiosa* en Corse (3.11.2015). Draaf, Anses, INRA. Rapport definitive.
- Choi H.K., et al., 2013.** Water deficit modulates the response of *Vitis vinifera* to Pierce's disease pathogen *Xylalla fastidiosa*. Plant-microbe Interactions 26: 643.
- Commission Implementing Decision (EU) 2015/789** of 18 May 2015 as regards measures to prevent the introduction into and the spread within the Union of *Xylella fastidiosa* (Wells *et al.*). Official Journal of the European Union L 125/36-53, 21.5.2015.
- Cornara D. and Porcelli F., 2014.** Observations on the biology and ethology of Aphrophoridae: *Philaenus spumarius* in the Salento Peninsula. Proceedings International Symposium on the European Outbreak of *Xylella fastidiosa* in Olive, Gallipoli-Locorotondo, Italy. P. 32
- Cornara D. et al., 2016.** Insights into the role of spittlebugs as vectors of *Xylella fastidiosa* in Italy. Submitted.
- Das M. et al., 2015.** Control of Pierce's disease by phage. PLoS ONE 10: doi10.1371.
- de Mesa I. F., 2015.** Mediterranean farmers face *Xylella fastidiosa*. Watch Letter CIHEAM, 33.
- Daugherty M.P., et al., 2011.** Vector preference for hosts differing in infection status: sharpshooter movement and *Xylella fastidiosa* transmission. EcolEntomol, 36, 654.
- Dawkins R., 2003.** A devil's Chaplain. Trad. E. Faravelli, T. Plevani, *Il cappellano del Diavolo*. Raffaello Cortina Editore, Milano.
- Della Coletta-Filho H. D., et al., 2016.** First report of olive leaf scorch in Brazil, associated with *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*. Phytopathologia mediterranea, doi:10.14601/17259.
- Della Colletta-Filho H.D., et al., 2014b.** Seven years of negative detection results confirm that *Xylella fastidiosa*, the causal agent of CVC, is not transmitted from seeds to seedlings. J. Plant Pathology 95: 493.
- Della Colletta-Filho H.D., 2014a.** Diseases induced by *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*: ecology, epidemiology and managment. Oral presentation. International symposium on the european outbreak of *Xylella fastidiosa* in olive. Gallipoli, Locorotondo, Italy, 22-24 10, 2014.

- De Souza et al., 2014.** Some approaches aiming at citrus variegated chlorosis control in Brasil. Oral presentation. International symposium on the european outbreak of *Xylella fastidiosa* in olive. Gallipoli, Locorotondo, Italy, 22-24 10, 2014.
- Digiario M., F. Valentini, 2015.** The presence of *Xylella fastidiosa* in Apulia region (Southern Italy) poses a serious threat to the whole Euro-Mediterranean region. Watch Letter CIHEAM, 33.
- Djelouah K., et al., 2014.** Direct tissue blot immunoassay for detection of *Xylella fastidiosa* in olive trees. *Phytopathologia Mediterranea* 53: 559–564.
- do Amaral AM, et al., 1994.** Effect of pruning in “Valencia” and “Pera Rio” orange trees (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) with symptoms of citrus variegated chlorosis (CVC). *Ciencia e Pratica* (Portuguese), 18, 306.
- Doddapaneni et al., 2007.** Genome-wide analysis of *Xylella fastidiosa*: implications for detection and strain relationships. *Afric. J. of Biotech* 6, 55
- Dongiovanni C. et al., 2016.** Risultati preliminari di prove comparative di efficacia per il controllo di *Philaenus spumarius*, vettore di *Xylella fastidiosa*. *Atti Gior. Fitop.* 1: 393.
- Drake J. W. et al., 1998.** Rates of Spontaneous Mutation. *Genetics* 148: 1667.
- El Ammouri F., 2014.** The potential of spectroradiometry in the detection of *Xylella fastidiosa* associated to "Complesso del disseccamento rapido dell'olivo". Tesi master, anno accademico 2013-2014, Centre International de Hautes Etudes Agronomiques Méditerranéennes, Bari.
- EFSA, 2015a.** Categorisation of plants for planting, excluding seeds, according to the risk of introduction of *Xylella fastidiosa*. *EFSA J.* 13: 4061.
- EFSA 2015b.** PLH Panel. Scientific opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa*. *EFSA J.* 13: 3989.
- EFSA, 2015c.** PLH Panel. *Vitis* sp. response to *Xylella fastidiosa* strain CoDiRO. *EFSA J.* 13: 4314.
- EFSA, 2015d.** Response to scientific and technical information provided by an NGO on *Xylella fastidiosa*. *EFSA J.* 13:4082.
- EFSA, 2016a.** PLH Panel. Treatment solutions to cure *Xylella fastidiosa* diseased plants. *EFSA J.* 14: 4456.
- EFSA, 2016b.** La *Xylella* sta provocando la malattia degli olivi in Italia. 4/11/2016 http://www.efsa.europa.eu/it/print/press/news/160329_2/2.
- EFSA, 2016c.** Scientific report on the update of a database of host plants of *Xylella fastidiosa*: 20 November 2015, *EFSA J.* 14: 4378,40 pp. Doi:10.2903/j.efsa.2016.4378
- EFSA, 2016d.** PLH Panel. Scientific opinion on four statements questioning the EU control strategy against *Xylella fastidiosa*. *EFSA Journal* 2016;14(3):4450, 24 pp. doi:10.2903/j.efsa.2016.4450
- Elbaino T. et al., 2014a.** Multilocus sequence of *Xylella fastidiosa* isolated from olive affected by “olive quick decline syndrome” in Italy. *Phytopathologia Mediterranea* 53: 533-542.
- Elbaino T. et al., 2014b.** Identification of three potential insect vectors of *Xylella fastidiosa* in Southern Italy. *Phytopathologia Mediterranea* 53: 126-130
- Fadel A.L.et al., 2014.** A cultivar resistant to citrus variegated chlorosis. *Crop protection* 64: 115.
- Flint M. L., 2016.** *Pests of Landscape Trees and Shrubs, Third Edition: An Integrated Pest Management*

Guideests of Landscape Trees <https://books.google.it/books>

Frisullo S. et al., 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. *J. Plant Pathol.* 96: 441.

Gianpetrucci A. et al., 2015a. Draft genome sequence of the *Xylella fastidiosa* CoDiRO strain, *Genome Announcements* 3 : e01538.

Gianpetrucci A. et al., 2015b. Draft genome sequence of CO33, a coffee-infecting isolate of *Xylella fastidiosa*, *Genome Announcements* 3 : e01472-15.

Gianpetrucci A. et al., 2016. Transcriptome profiling of two olive cultivar in response to infection by the CoDiRO strain of *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*. Submitted.

Gualano S. et al., 2014. Analisi assistita da immagini aeree ad elevata risoluzione geometrica per il riconoscimento del CoDiRO dell’olivo associato al batterio *Xylella fastidiosa* in Puglia. Atti del XVIII conferenza nazionale ASITA. pp. 651-659.

Guario et al., 2013. Disseccamento rapido dell’olivo, cause e misure di contenimento. *L'Informatore Agrario* 46: 51.

Haelterman R.M. et al., 2015. First presumptive diagnosis of *Xylella fastidiosa* causing olive scorch in Argentina. *J. Plant Pathology* : 393.

Hartung J.S., 2014. Lack of evidence for transmission of *Xylella fastidiosa* from infected sweet orange seed, *J. Plant Pathology* 96: 497.

Hearon S.S., et al., 1980. Association of xylem-limited bacteria with elm, sycamore, and oak leaf scorch. *Can J Bot*, 58, 1986–1993.

Hernandez-Martinez R., et al., 2007. Phylogenetic relationships of *Xylella fastidiosa* strains isolated from landscape ornamentals in southern California. *Phytopathology* 97, 857–864.

Hill B.L. e Purcell A.H., 1995. Multiplication and movement of *Xylella fastidiosa* within grapevine and four other plants. *Phytopathology* 85: 1368.

Holland R.M., et al., 2014. Distribution of *Xylella fastidiosa* in blueberry stem and root sections in relation to disease severity in the field. *Plant Disease*, 98, 443.

Hopkins D.L., 2014. Control strategy for *Xylella fastidiosa*. Oral presentation. International symposium on the european outbreak of *Xylella fastidiosa* in olive. Gallipoli, Locorotondo, Italy, 22-24 10, 2014.

Hopkins D.L. e A. H. Purcell , 2002. *Xylella fastidiosa*: cause of Pierce's disease of grapevine and other emergent diseases. *Plant Disease*, 86: 1056.

Krell R. K., et al., 2007. Mechanical and insect transmission of *Xylella fastidiosa* to *Vitis vinifera*. *Am. J. Enol. Vitic.* 58:211.

Krugner R., 2014. Evaluation of olive as a host of *Xylella fastidiosa* and associated sharpshooter vectors. *Plant Disease* 98: 1186.

Kung e Almeida, 2011. Natural competence and recombination in the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. *Appl Environ Microbiol.* 77:5278

Janse J.D. and A. Obradovic, 2010. *Xylella fastidiosa*: its biology, diagnosis, control and risks. Journal of Plant Pathology 92, S1.35–S1.48.

Janse J. D., et al., 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. *Xylella fastidiosa*. J. Plant Pathology 94: 147-154.

Joudar S., 2016. Cadre réglementaire en France et dans l'Union européenne pour la gestion des émergences de *Xylella fastidiosa*. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Présentations effectuées au séminaire "*Xylella fastidiosa*" du 10 mars 2016.

Lacirignola C., et al., 2015. Contribution of CIHEAM-Bari for the early surveillance of *Xylella fastidiosa* and its vectors on olive trees in Italy. Watch Letter CIHEAM, 33.

Legendre B. et al., 2014. Identification and characterization of *Xylella fastidiosa* isolated from coffee plants in France. Oral presentation. International symposium on the european outbreak of *Xylella fastidiosa* in olive. Gallipoli, Locorotondo, Italy, 22-24 10, 2014.

Legendre B., 2016. Diagnostic et méthodes de détection de *Xylella fastidiosa*. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Présentation effectuées au séminaire "*Xylella fastidiosa*" du 10 mars 2016.

Lapedota S., 2015. Interview to Gen. Silletti G. The issue of *Xylella fastidiosa* in Italy. Watch Letter CIHEAM, 33.

Loconsole G., et al., 2016. Intercepted isolates of *Xylella fastidiosa* in Europa reveal novel genetic diversity. Eur. J. Plant Pathol. DOI 10.1007/s10658-016-0894-x.

Loconsole G. et al., 2014. Detection of *Xylella fastidiosa* in olive trees by molecular and serological methods. J. Plant Pathology, 96:7-14.

Marcelletti S. e M. Scortichini, 2016. Genome wide comparison and taxonomic relatedness of multiple *Xylella fastidiosa* strains reveal the occurrence of three subspecies and a new *Xylella* species. Arch Microbiol DOI 10.1007/s00203-016-1245-1.

Maiden et al., 1998. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. Proc Natl Acad Sci 95: 3140

Martelli G. P., 2013. Disseccamento rapido dell'olivo. Georgofili INFO 30 Ottobre 2013.

Martelli G.P., 2015a. Il disseccamento rapido dell'olivo: stato delle conoscenze. Frutticoltura 10: 2.

Martelli G.P., 2015b. The current status of the quick decline syndrome of olive in Southern Italy. Phytoparasitica 44: 1-10 (DOI 10.1007/s12600-015-0498-6).

Martelli G.P. et al. 2016. The olive quick decline syndrome in south-east Italy: a threatening phytosanitary emergency. European Journal of Plant Pathology 144: 235.

Marucci, R. C., et al., 2004. Feeding site preference of *Dilobopterus costalimai* Young and *Oncometopia facialis* (Signoret) (Hemiptera: Cicadellidae) on citrus plants. Neotrop. Entomol. 33: 759.

Mastrogiovanni M., 2015. *Xylella* report. Uccidete quella foresta, Attacco agli olivi secolari del Salento. IdeaDinamica Scarl, Casarano, Lecce.

- Meng Y. et al., 2005.** Upstream migration of *Xylella fastidiosa* via pilus-driven twitching motility. J. Bacteriology 187: 5560.
- Muranaka L.S. et al., 2013.** N-acetylcysteine in agriculture, a novel use of an old molecule: focus on controlling the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. PLoS ONE 8 doi:10.1128.
- Nigro F., et al., 2013.** Fungal species associated with a severe decline of olive in Southern Italy. J. Plant Pathology 95: 668
- Nunney L., et al., 2013.** Recent evolutionary radiation and host plant specialisation in the *Xylella fastidiosa* subspecies native to the United States. Appl. Environ. Microbiol. 79: 2189.
- Nunney L., 2014.** Large-scale interspecific recombination in the plant-pathogenic bacterium is associated with the host shift to mulberry. App. Env. Microbiol. : 80. 3025.
- Nunney L., et al., 2014.** The complex biogeography of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*: genetic evidence of introductions and subspecific introgression in Central America. PLoS ONE 9, e112463.
- Perrino P., 2011.** Il glifosato avvelena colture e suolo. Le colture transgeniche tolleranti al glifosato causano malattie e morte. Lavoro presentato al 8° Convegno “Il Riso, Alimento Fondamentale per la Salute Umana”(Pavia). Atti del Convegno a cura di M. Pianesi.
- Perrino P., 2015.** Relazione sul complesso dell'essiccamento rapido dell'olivo (CoDiRO) nel Salento (*pro manuscripto*).
- Purcell A.H., 1979.** Role of weed management in Pierce's disease and almond leaf scorch disease. Phytopathology, 69, 1043
- Purcell A. H. e S. R. Saunders, 1999.** Fate of Pierce's disease strains of *Xylella fastidiosa* in common riparian plants in California. Plant. Dis. 83:825.
- Purcell A. H., 2013.** Paradigms: examples from the bacterium *Xylella fastidiosa*. Annual Review of Phytopathology 51, 339–356.
- Redak R. A. et al., 2004.** The biology of xylem fluid-feeding insect vectors of *Xylella fastidiosa* and their relation to disease epidemiology. Annu. Rev. Entomol. 2004. 49:243.
- Rosche W. A. e Foster P.L., 2000.** Determining mutation rates in bacterial populations. Methods 20: 4. doi:10.1006/meth.1999.0901.
- Sansavini S., 2015.** Il difficile dialogo fra le culture umanistica e scientifica. Il Carrobbio, Patron, Bologna.
- Santoro F. et al., 2014.** Development of an Information Acquisition System for field monitoring of *Xylella fastidiosa*. Atti del Convegno International Symposium on the European outbreak of *Xylella fastidiosa* in
- Saponari M., D. et al., 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, 668. olive, poster (Ottobre 2014, Gallipoli, Italia)
- Saponari M. et al., 2014.** Infectivity and Transmission of *Xylella fastidiosa* by *Philaenus spumarius* (Hemiptera:Aphrophoridae) in Apulia, Italy. J. Econ. Entomol. 107: 1316.
- Saponari M., 2015.** Host of *Xylella fastidiosa* strain CoDiRO. Apulia Dec. 2015.

- Saponari M. e Boscia D., 2015.** Pathogenicity tests and analysis to verify the susceptibility of grapevines to *Xylella* strain CoDiRO. Scientific report to EFSA.
- Saponari et al., 2016.** Pilot project on *Xylella fastidiosa* to reduce risk assessment uncertainties. External final scientific report. EFSA Supporting publication 2016:EN-1013
- Shapiro, 2008.** Evolution, a view from the 21st century. FT Press, New Jersey.
- Simpson A.J.G., et al., 2000.** The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. Nature 406, 151–159.
- Stancanelli G. et al., 2015.** Assessing the risk potential to plant health by *Xylella fastidiosa* in the European Union. Watch Letter CIHEAM, 33.
- Tunber et al., 2014.** Pierce's disease costs California \$104 million per year. Cal. Agr. 68: 20.
- Wells J.M., et al., 1987.** *Xylella fastidiosa* gen. nov., sp. nov: gram-negative, xylem-limited, fastidious plant bacteria related to *Xanthomonas* spp. International Journal of Systematic Bacteriology 37, 136–143.
- Yang J., et al., 2014.** Biological control of Pierce's disease: identification of the endophytic mycobiota inhabiting diseased and symptomless grapevines. Phytopathology 104: 133.
- Yaseen T. et al., 2014.** Recently developed methods for in situ detection of *Xylella fastidiosa* in olive trees and insects. Atti del Convegno International Symposium on the European outbreak of *Xylella fastidiosa* in olive, poster (Ottobre 2014, Gallipoli, Italia).
- Yaseen T. et al., 2015.** On-site detection of *Xylella fastidiosa* in host plants and in “spy insects” using the real-time loop-mediated isothermal amplification method. Phytopathologia mediterranea, 54:488-496.