Interazioni pianta-insetto-microrganismi in specie autoctone e alloctone di emergente interesse fitosanitario

Elena Gonella

Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari (DISAFA)
Università di Torino

Attività di ricerca finanziate dall'ERSAF su recenti emergenze di interesse fitosanitario

- Prevenzione e controllo di nuove emergenze fitosanitarie in Lombardia: *Popillia japonica* e *Xylella fastidiosa*" – PRECONFITOLOMB (2019-2022)

- Il controllo Simbiotico, un'efficace strategia per la gestione della cimice asiatica *Halyomorpha halys* (SENECA) (2020-2023)

1. Identificazione delle piante ospiti di insetti xilemomizi vettori di *Xylella fastidiosa* tramite caratterizzazione molecolare del contenuto intestinale

- ***Xylella fastidiosa***: quasi 700 specie di piante ospiti in natura, erbacee e arboree, selvatiche e coltivate.

- ***Philaenus spumarius*** (il principale vettore di *X. fastidiosa* in Europa): altamente polifago, si nutre su mono- e dicotiledoni erbacee e arboree.

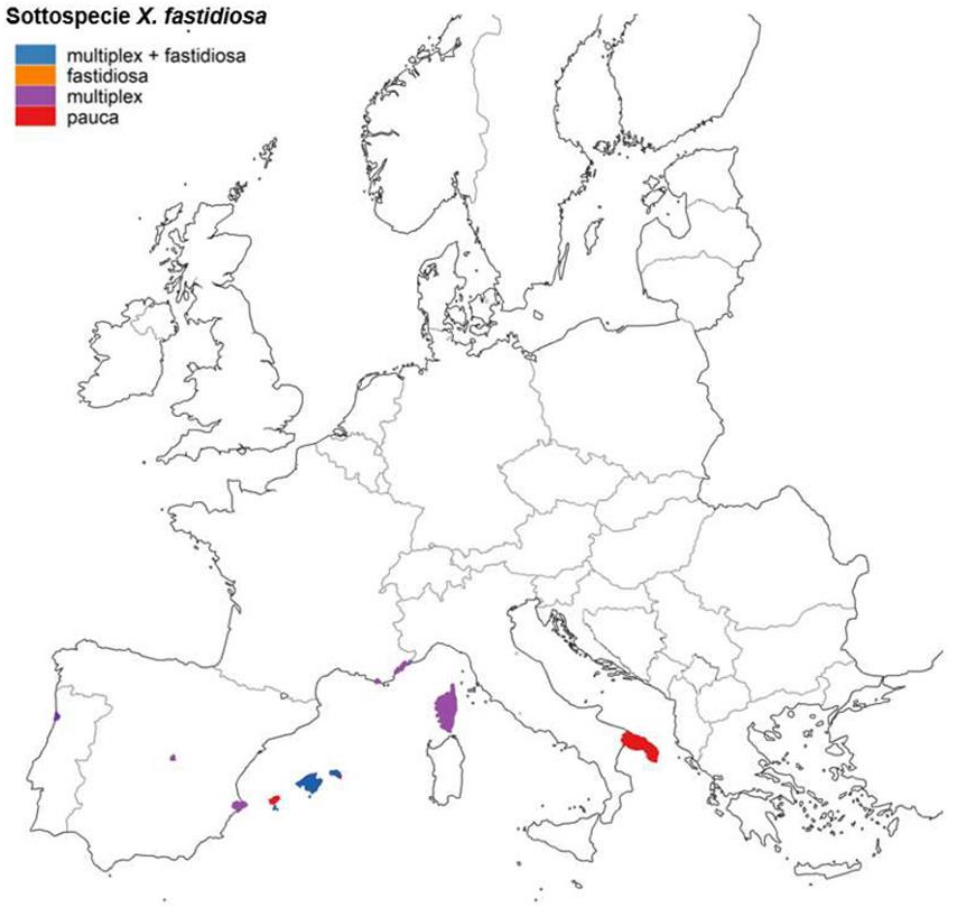
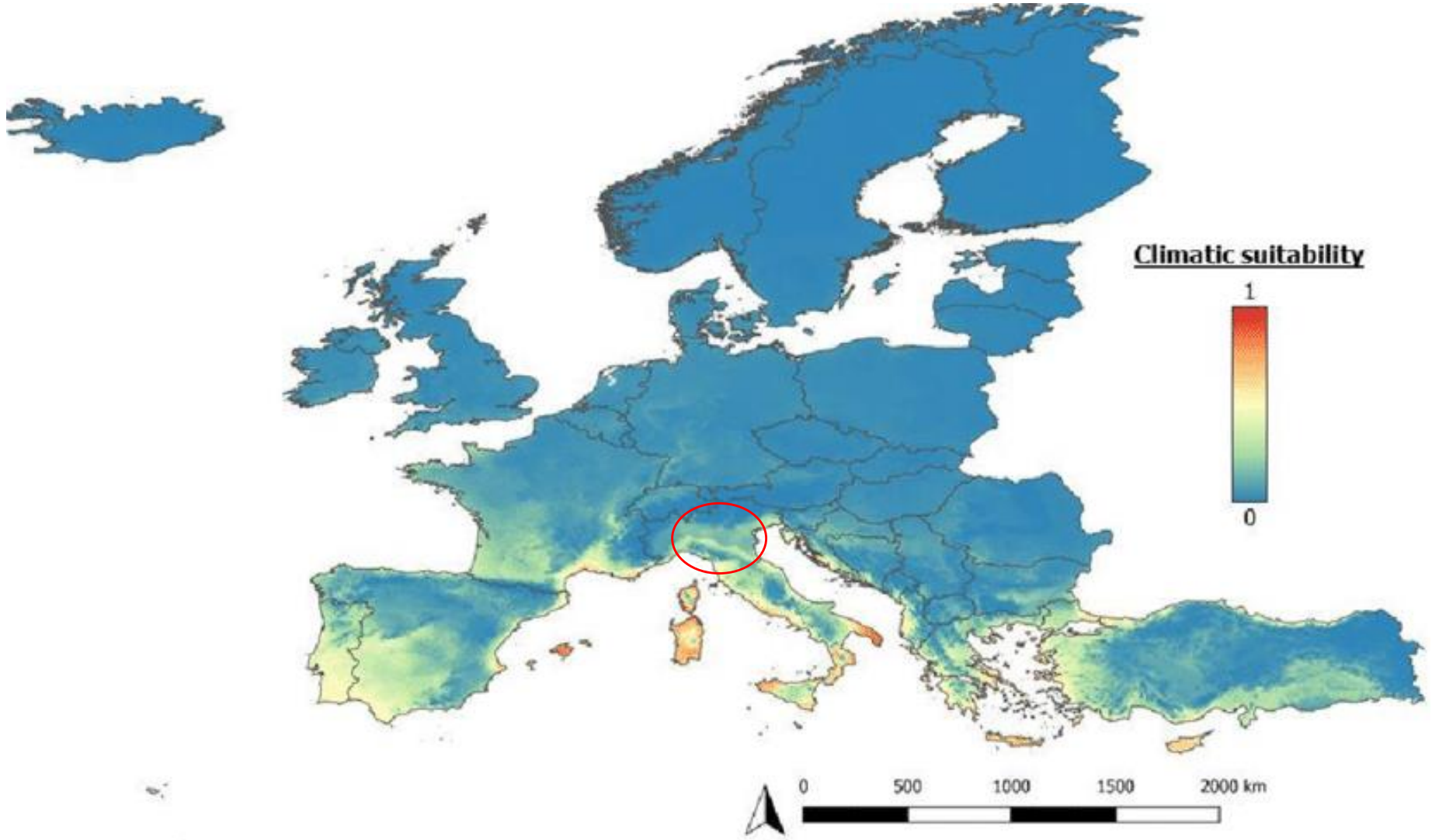


Figura 1 : Aree infette da *Xylella fastidiosa* in Europa (2020).

Potenziale di diffusione di *X. fastidiosa* in Europa



Aree climatiche Cfa (clima temperato con periodi asciutti ed estate calda): adatte all'insediamento di *X. fastidiosa* (EFSA, 2019).

Protocollo diagnostico per l'identificazione delle piante ospiti di vettori di *X. fastidiosa*

Obiettivi:

- Ricerca di DNA vegetale nell'intestino di *P. spumarius* (target molecolare: regione genica trnL-trnF del cloroplasto).
- Creazione di uno strumento per la rapida individuazioni di piante ospiti fonte di inoculo del patogeno.
- Supporto alle attività di monitoraggio per la presenza del patogeno ad opera dei servizi fitosanitari.

Gonella E., Picciau L., Pippinato L., Cavagna B., Alma A. 2020. Host plant identification in the generalist xylem feeder *Philaenus spumarius* through gut content analysis. Entomol. Exp. Appl. 168, 890-899.

Applicazione del protocollo

Campionamento diretto

Identificazione potenziali vettori

Diagnosi
X. fastidiosa

Ricerca DNA del cloroplasto per identificazione pianta ospite

Ricerca di possibili fonti di inoculo

Il protocollo è utile anche in assenza del patogeno, per migliorare la comprensione del ciclo biologico degli adulti di *P. spumarius* durante la stagione.

Analisi del contenuto intestinale di adulti di *P. spumarius* campionati in areali olivicoli della Lombardia (campionamento effettuato il 27/07/2020):

Località	Ambiente di raccolta	N. adulti di P. spumarius analizzati	N. insetti contenenti DNA di olivo	N. insetti contenenti DNA di vite	Altri generi di piante consumate
Sale Marasino (BS)	Oliveto	8	1	-	*Lapsana, Taraxacum, Pseudocrossidium, Dactylis, Achillea,* ***Cupressum***
Grumello del Monte (BG)	Vigneto	5	-	5	-
Grumello del Monte (BG)	Oliveto	17	1	-	*Equisetum, Convolvolus, Solanum, Ambrosia, Clematis, Crepis,* ***Tilia****, Galinsoga; Lactuca, Hypericum,* ***Ailanthus, Pinus****, Sorghum, Aegylops*

2. Studio del processo di invasione di *Popillia japonica*

Ricerche completate:

- Studio della dispersione di *Popillia japonica* e applicazione di modelli matematici in supporto al monitoraggio e alla difesa. Risultati descritti nell'articolo di Borgogno Mondino et al. **Modelling the spread of *Popillia japonica* Newman (Coleoptera: Scarabaeidae) from a recently infested area** (sottomesso alla rivista Entomologia Generalis);

In corso:

- Studio del microbiota di larve e adulti di *Popillia japonica.*

Il microbiota delle larve di *Popillia japonica*

Il microbiota degli insetti invasivi:

- Aiuta l'ospite ad adattarsi nel nuovo habitat;
- Contribuisce al suo potenziale invasivo.

Eventuali patogeni co-introdotti possono limitare la fitness o la fecondità degli insetti nativi riducendo il tasso riproduttivo o indebolendo le loro capacità competitive.

Descrizione del microbiota intestinale delle larve di *P. japonica* e di altri scarabeidi autoctoni per verificare le possibili minacce per la biodiversità autoctona.

Schema sperimentale

Raccolta di larve mature

Regione di raccolta	Località di raccolta	Ambiente di raccolta
Lombardia	Lonate Pozzolo (MI)	Prato polifita irriguo
Piemonte	Grugliasco (TO)	Bordo frutteto di pomacee
Valle d'Aosta	Aosta	Bordo vigneto

Area infestata da *P. japonica*

Aree indenni da *P. japonica*

Identificazione morfologica e dissezione delle larve

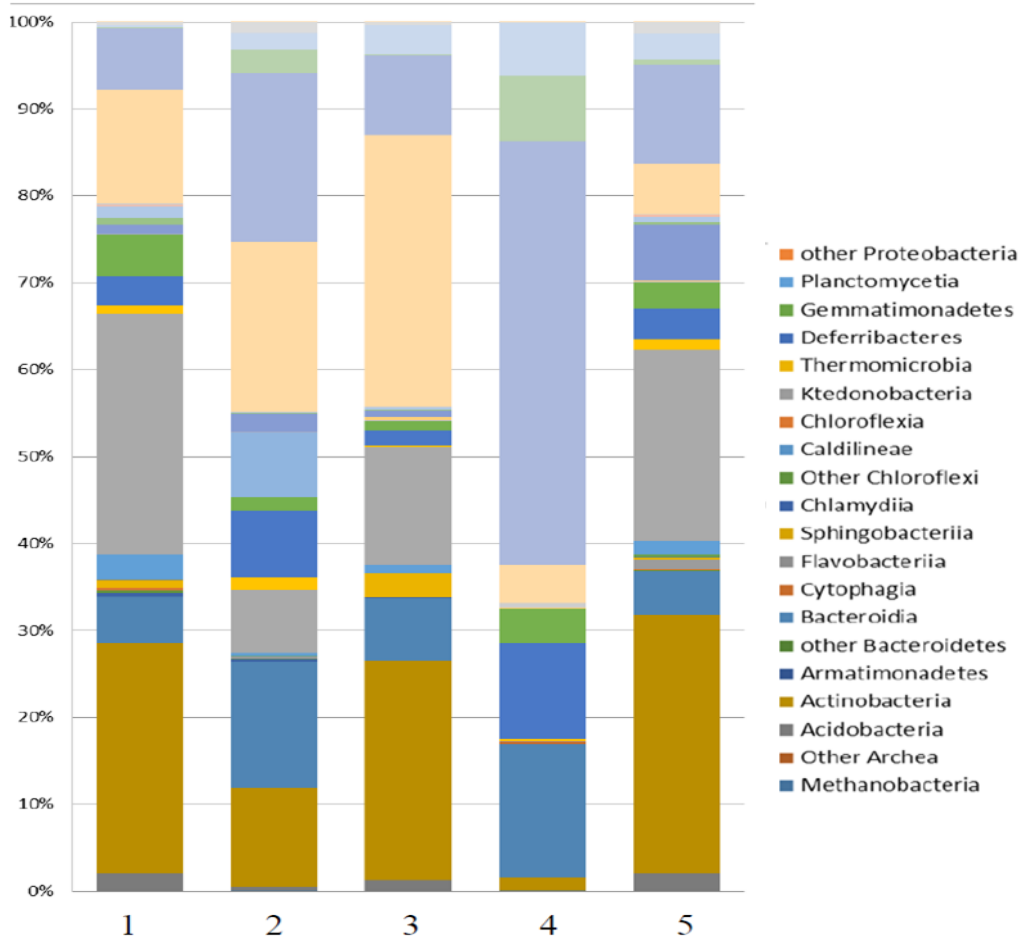
Estrazione del DNA intestinale e sequenziamento delle regioni ipervariabili V3-V4 del gene 16SrRNA batterico

Risultati del sequenziamento

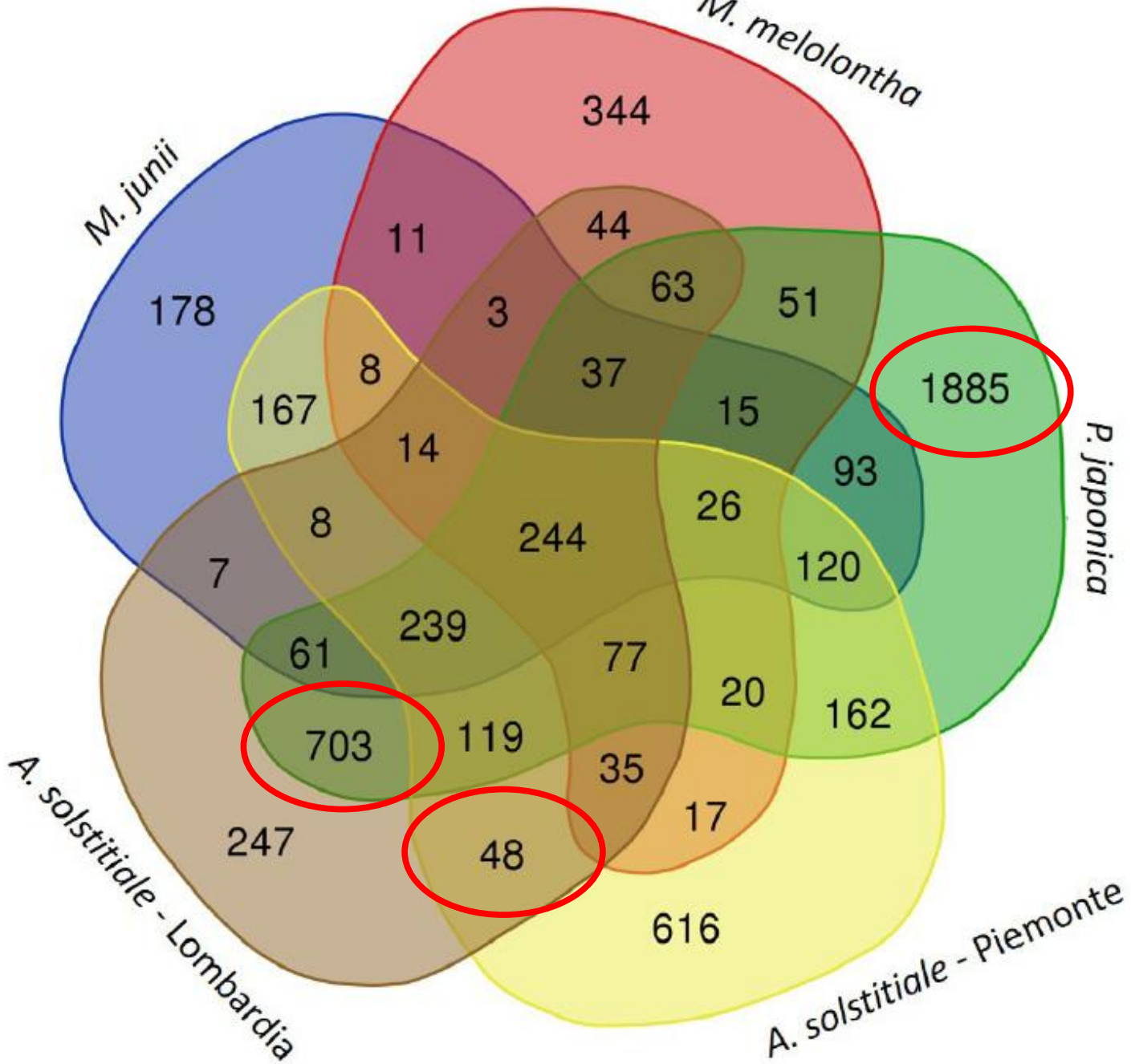
PRECONFITOLOMB

Specie	Provenienza	N. totale reads	N. totale OTU
P. japonica	Lombardia	5.081.111	3915
A. solstitiale	Lombardia	1.092.679	1949
A. solstitiale	Piemonte	1.216.348	1920
M. junii	Piemonte	502.620	1231
M. melolontha	Valle d'Aosta	1.627.488	1009

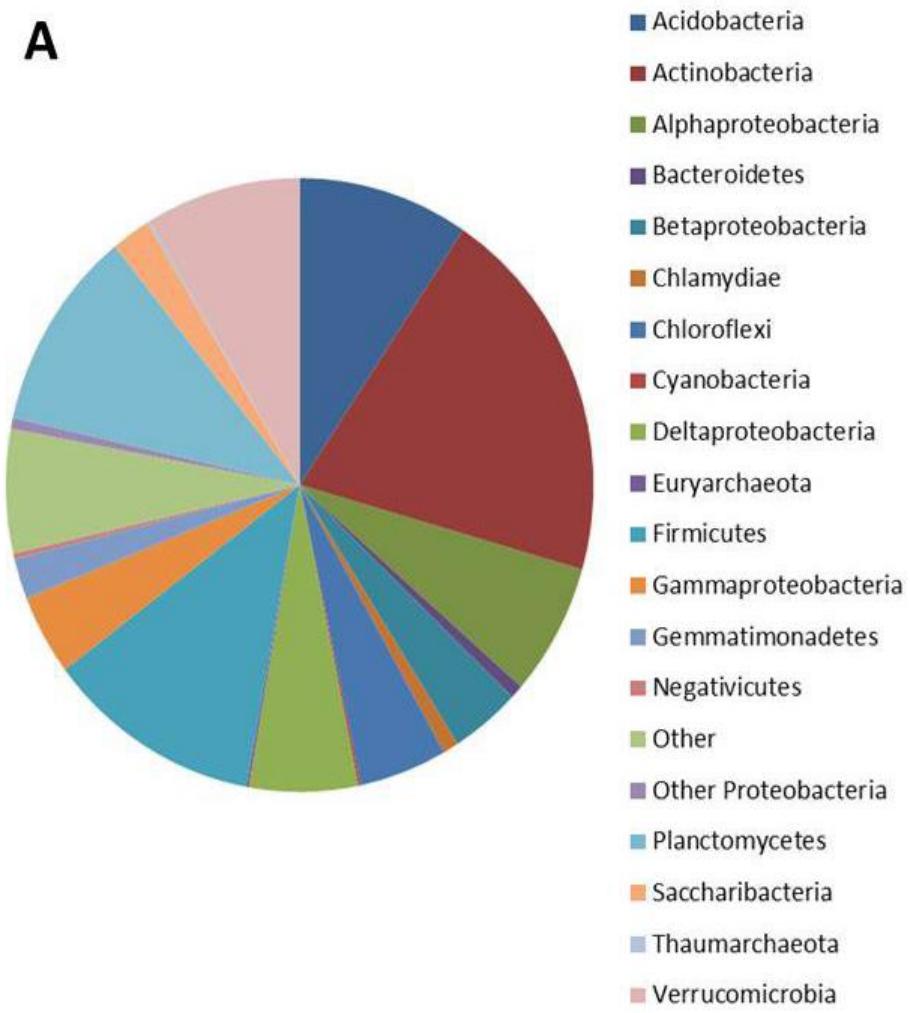
1) *Amphimallon solstitiale* – Piemonte;
2) *Amphimallon solstitiale* – Lombardia;
3) *Mimela junii*;
4) *Melolontha melolontha*;
5) *Popillia japonica*

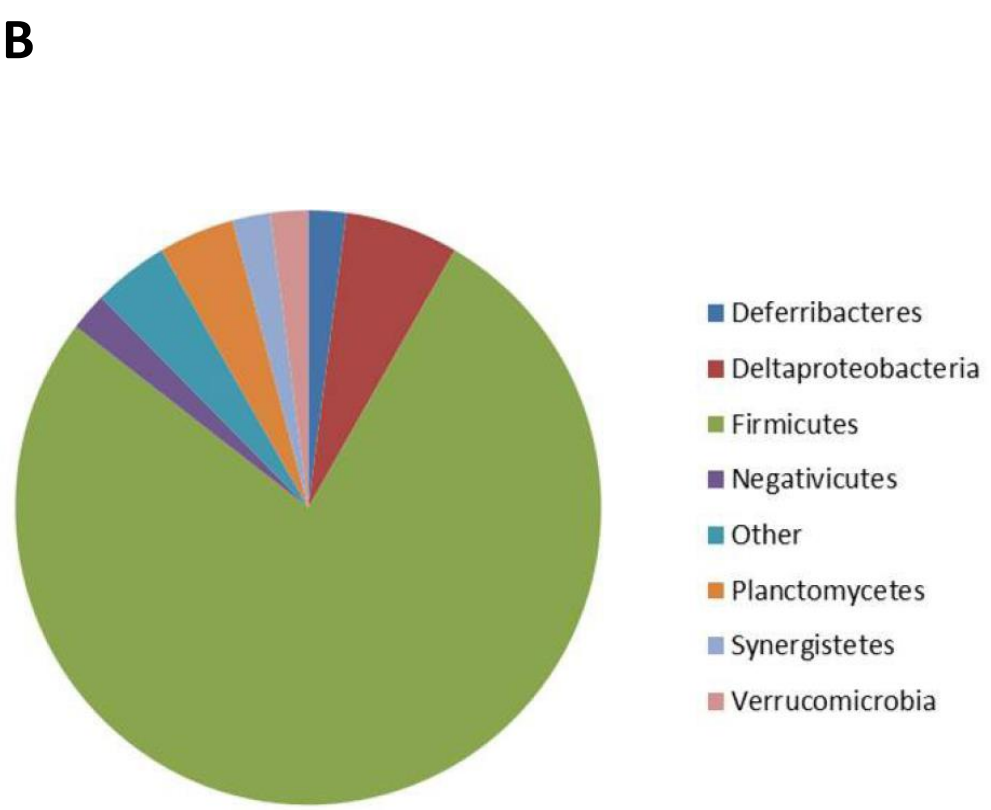


PRECONFITOLOMB



Diversità del microbiota comune alle larve di *A. solstitiale* e *P. japonica* raccolte nel suolo lombardo (A) e specifiche per la specie *A. solstitiale (*comuni alle due popolazioni campionate) (B)





Conclusioni

- Ridotta componente batterica comune agli scarabeidi

  ⇩

  Più importante lo scambio mediato dall'ambiente di campionamento che la genetica.

- Altissima biodiversità batterica in P. *japonica*

  ⇩

  Possibile minaccia per i nostri ecosistemi.

- Bassa biodiversità batterica nelle specie autoctone

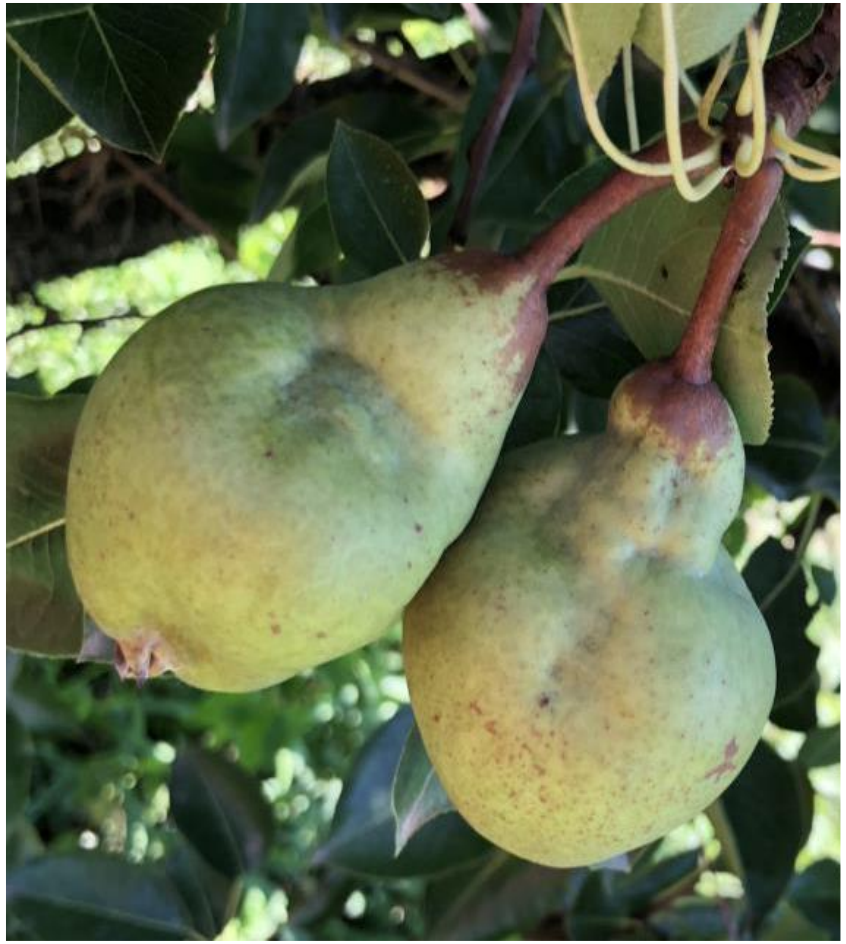
  ⇩

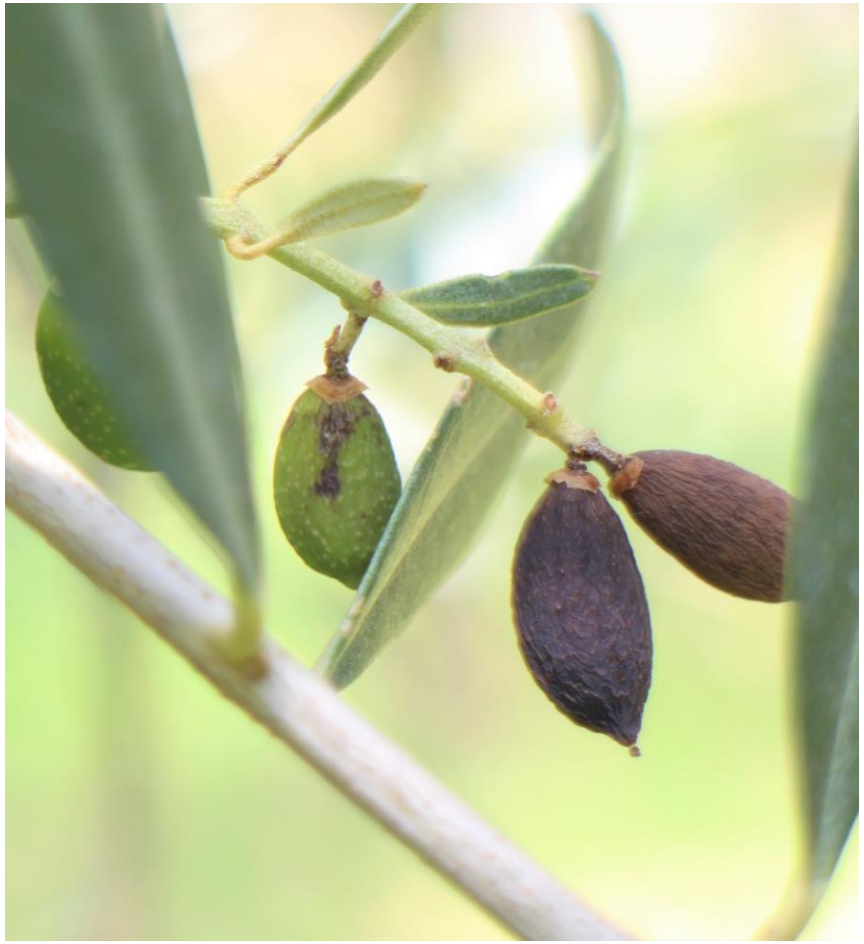
  Possibile flusso batterico dalla specie invasiva a quella autoctona.

I risultati preliminari suggeriscono l'importanza del microbiota intestinale nel processo di invasione di un nuovo ambiente da parte di *P. japonica*, e forniscono la base per:

- Approfondire la possibile minaccia dovuta alla presenza di potenziali patogeni per l'artropodofauna autoctona nel microbiota di *P. japonica*.
- Indagare sulla possibile inefficacia di trattamenti con agenti di lotta microbiologica contro questo insetto.

3. Il controllo simbiotico di *Halyomorpha halys*





Gli emitteri eterotteri ospitano simbionti primari intestinali necessari alla loro sopravvivenza

Megacopta cribraria

Elasmostethus interstinctus

Nezara viridula

Murgantia histrionica

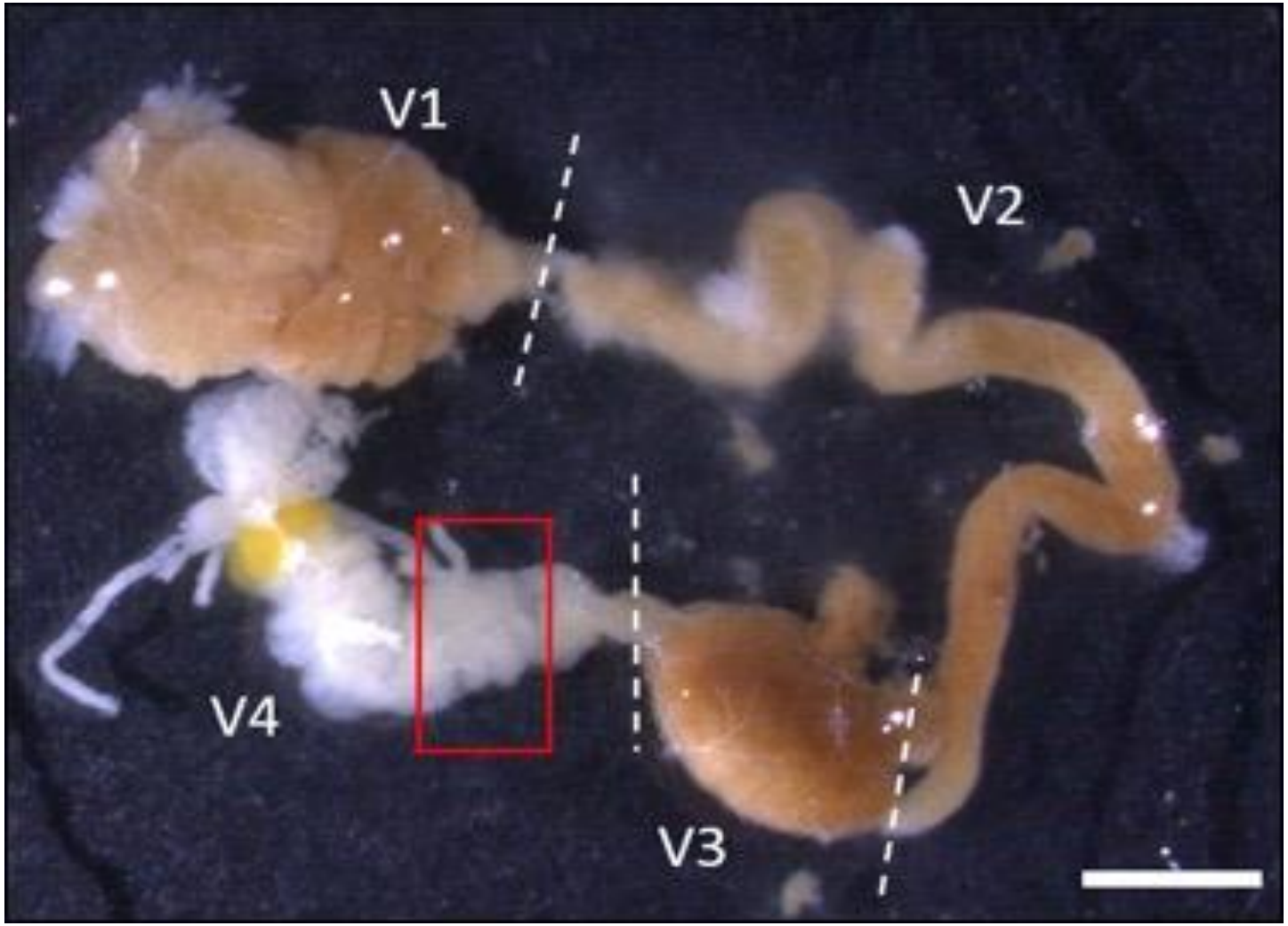
Plautia stali

Acanthosoma haemorrhoidale

Parastrachia japonensis

Urostylis westwoodii

SENECA



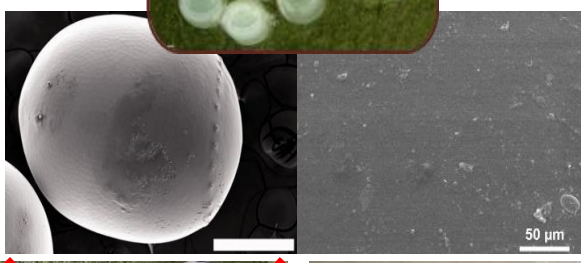
Nella famiglia Pentatomidae i batteri simbionti del genere *Pantoea* occupano la regione V4 dell'intestino medio. Il simbionte di *H. halys* è *Candidatus* Pantoea carbekii

Controllo simbiotico di *Halyomorpha halys*

Ciclo biologico

Naturale

In assenza del simbionte



DENTAMET SYM

Prodotto per il controllo simbiotico di *Halyomorpha halys*
Liquido Solubile
RAME (MoA: M, FRAC code M01)

COMPOSIZIONE
100 g di prodotto contengono:
RAME METALLO g 2 (= 25 g/L)
(sotto forma di Solfato tribasico)

INFORMAZIONI PER IL MEDICO
Sintomi: denaturazione delle proteine con lesioni a livello delle mucose, danno epatico e renale e del SNC, emolisi. Vomito con emissione di materiale di colore verde, bruciori gastroesofagei, diarrea ematica, coliche addominali, ittero emolitico, insufficienza epatica e renale, convulsioni, collasso. Febbre da inalazione del metallo. Irritante cutaneo ed oculare. Terapia: gastrolusi con soluzione latto-albuminosa, se cupremia elevata usare chelanti, penicillamina se la via orale è agibile oppure CaEDTA endovena e BAL intramuscolo; per il resto terapia sintomatica. Consultare un Centro Antiveleni.

CARATTERISTICHE

DENTAMET SYM

Prodotto per il controllo simbiotico di *Halyomorpha halys*

P305+P351+P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
P310 Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.
P391 Raccogliere il materiale fuoriuscito.
CONSERVAZIONE: P405 Conservare sotto chiave.
SMALTIMENTO: P501 Smaltire il contenuto/recipiente in conformità alla regolamentazione locale / regionale /

FAGIOLO (pieno campo): applicare DENTAMET SYM in numero di 2-4 interventi a intervalli di 7 giorni.

COMPATIBILITÀ: il prodotto non è compatibile con i prodotti a reazione alcalina.
Avvertenza: in caso di miscela con altri formulati deve essere rispettato il periodo di carenza più lungo. Devono inoltre essere osservate le norme precauzionali prescritte per i prodotti più tossici. Qualora si verificassero casi di intossicazione informare il medico della miscelazione compiuta.

CARATTERISTICHE

DENTAMET SYM è una formulazione contenente rame. Il suo impiego viene raccomandato su nocciolo, melo, pero, olivo e fagiolo per interventi di contenimento del batterio *Pantoea carbekii* presente sulle uova di *Halyomorpha halys*. Tale azione comporta la riduzione della flora intestinale delle neanidi causandone la morte o generando malformazioni che ne compromettono la sopravvivenza.

PARTITA N.

PRESCRIZIONI SUPPLEMENTARI
Non contaminare l'acqua con il prodotto o il suo contenitore. Non pulire il materiale d'applicazione in prossimità delle acque di superficie. Evitare la contaminazione attraverso i sistemi di scolo delle acque dalle aziende agricole e dalle [illegible]e.
[illegible]ssare guanti, maschera e tuta da lavoro durante le fasi di miscelazione/caricamento e applicazione del prodotto.
[illegible]rientrare nell'area trattata prima che la vegetazione sia completamente asciutta. Indossare tuta da lavoro prima di [illegible]rare nell'area trattata.

responsabile degli eventuali danni derivanti da uso improprio del preparato. Il rispetto di tutte le indicazioni contenute nella presente etichetta è condizione essenziale per assicurare l'efficacia del trattamento e per evitare danni alle piante, alle persone ed agli animali.
NON APPLICARE CON I MEZZI AEREI.
PER EVITARE RISCHI PER L'UOMO E PER L'AMBIENTE SEGUIRE LE ISTRUZIONI PER L'USO.
NON CONTAMINARE ALTRE COLTURE, ALIMENTI, BEVANDE E CORSI D'ACQUA.

DISAFA

Valutazione di diverse strategie di controllo simbiotico in agricoltura biologica su pomacee e olivo

<u>Prove di campo</u>

Prodotti saggiati:

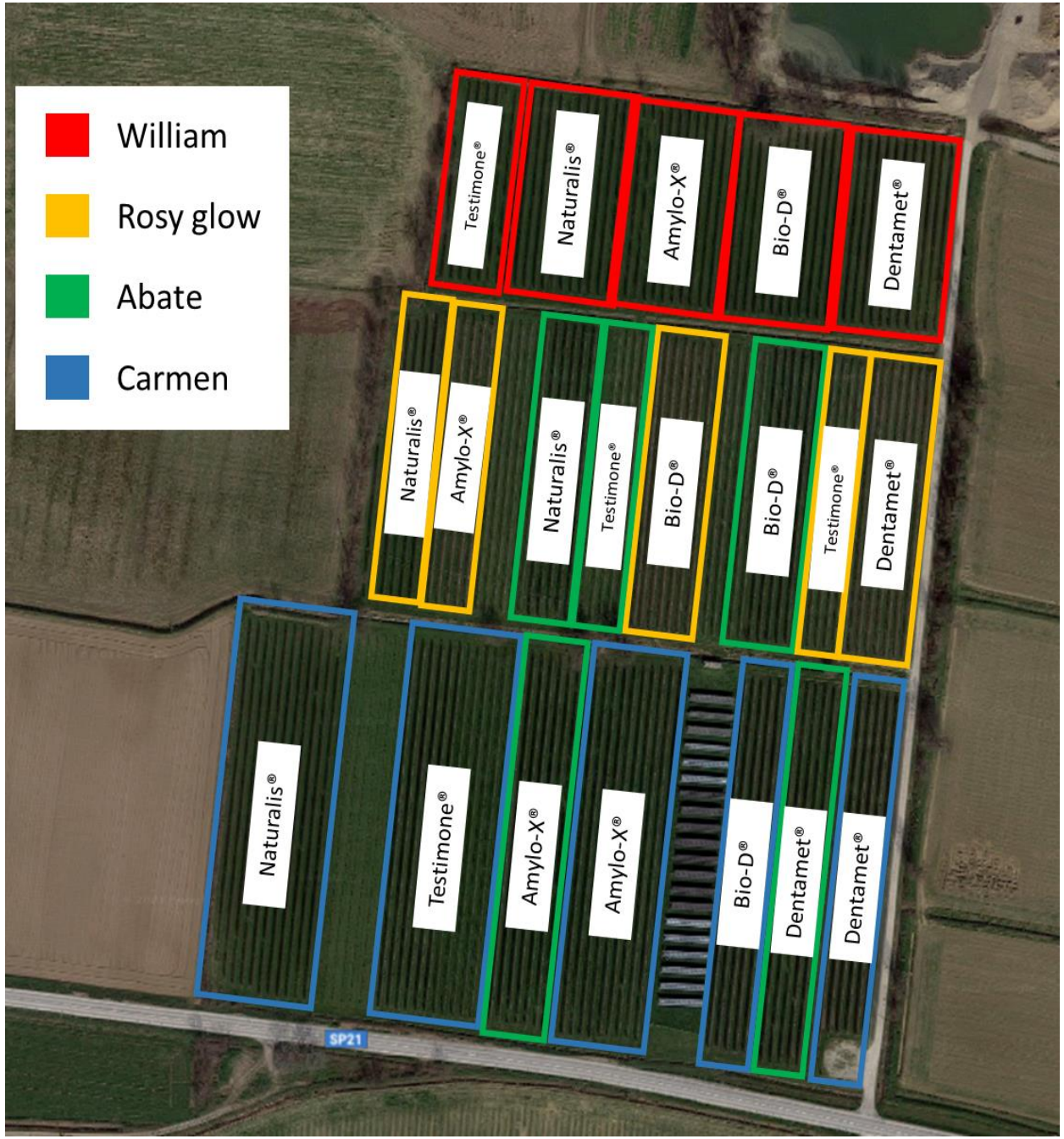
- Fertilizzanti integrati a base di microelementi con azione battericida (Dentamet-SYM® e Bio-D®, Diachem)
- Fungicida-battericida microbiologico a base di Bacillus amyloliquefaciens (Amylo-X®, Biogard)
- Insetticida microbiologico a base di *Beauveria bassiana* (Naturalis®, Biogard)

Pomacee

Località della prova Robecco D'Oglio (BS)

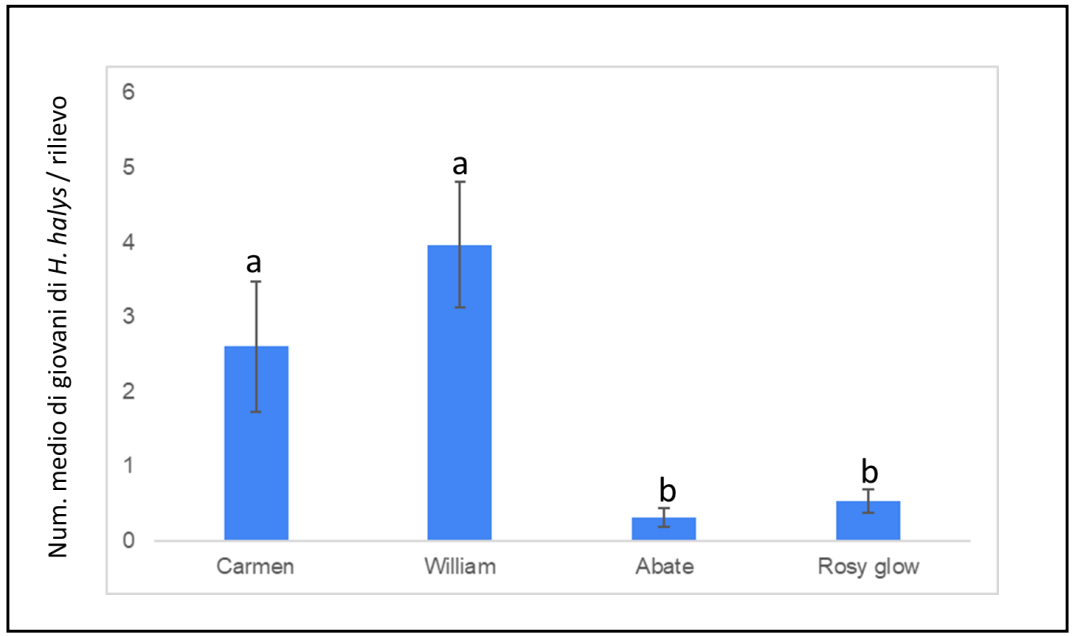
Schema sperimentale:

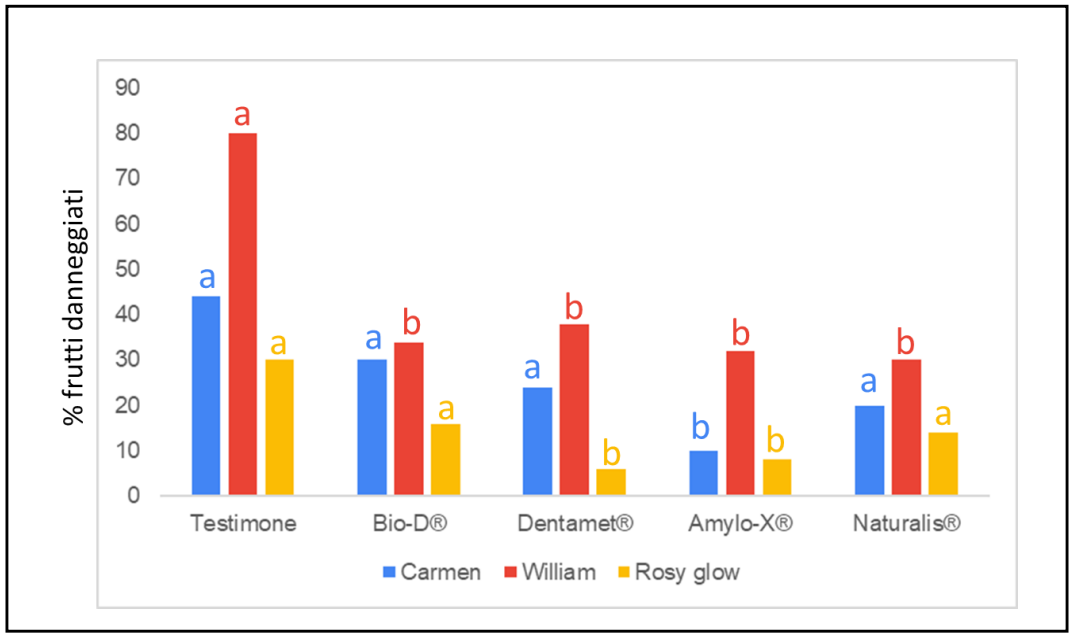
- Monitoraggio preliminare della presenza di *H. halys* tramite trappole;
- Monitoraggio degli adulti nell'appezzamento tramite frappage;
- Ricerca delle ovature;
- Primo trattamento dopo l'osservazione in campo dei primi adulti e al raggiungimento delle temperature ottimali per l'ovideposizione;
- Trattamenti successivi a calendario;
- Valutazione visiva del danno alla raccolta (50 frutti).

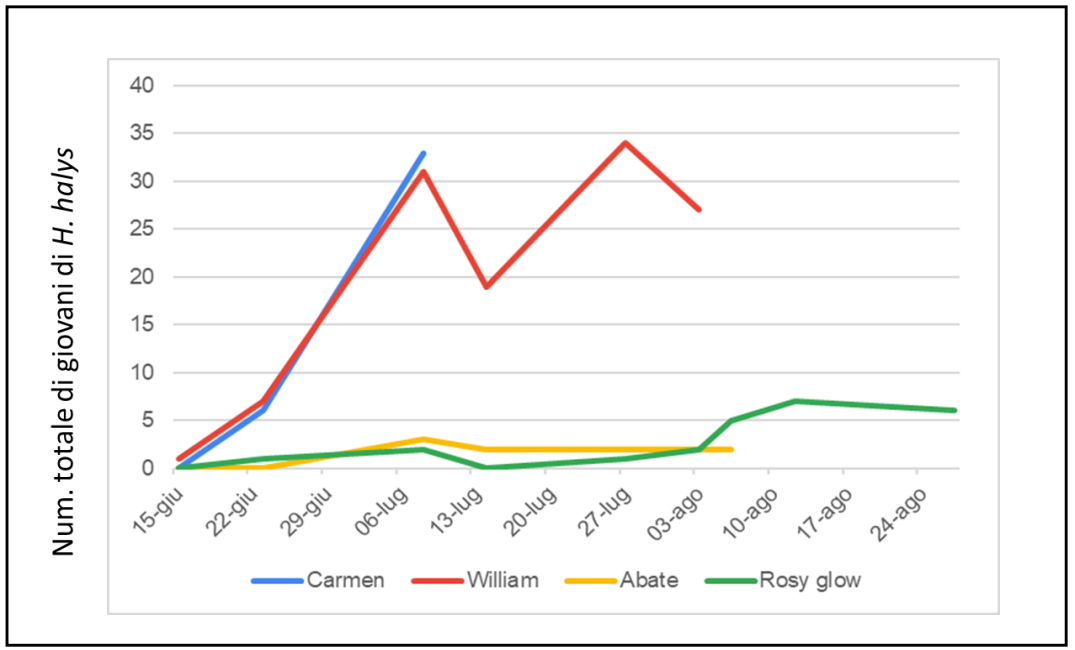


Risultati

SENECA



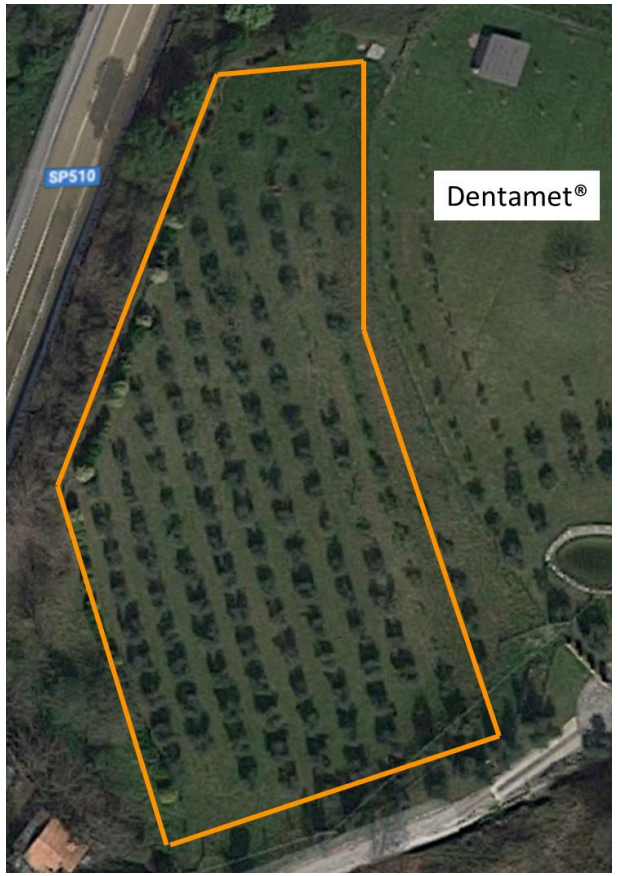


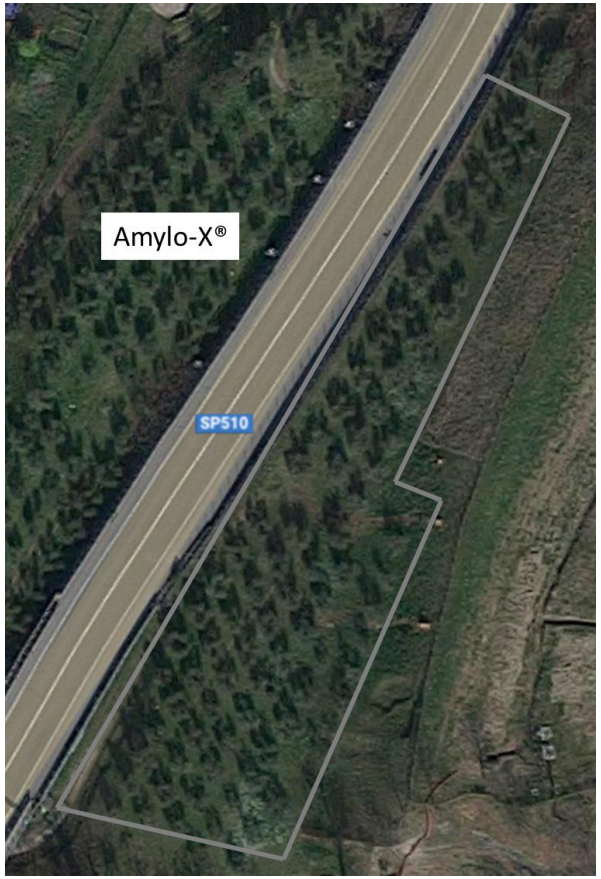


Olivo

SENECA

Località della prova Sale Marasino (BS)



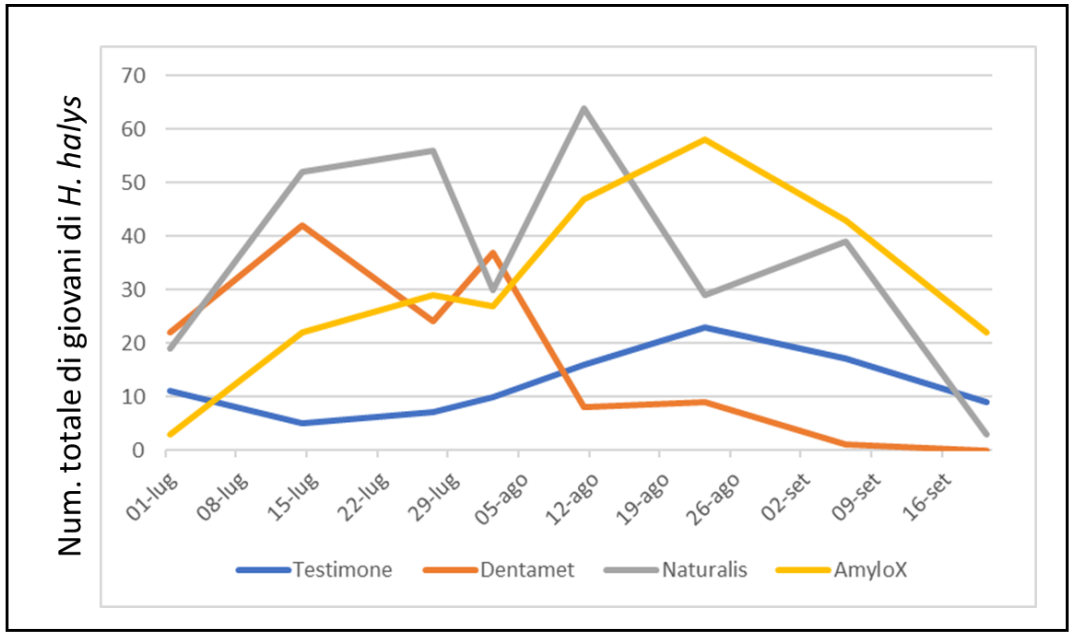


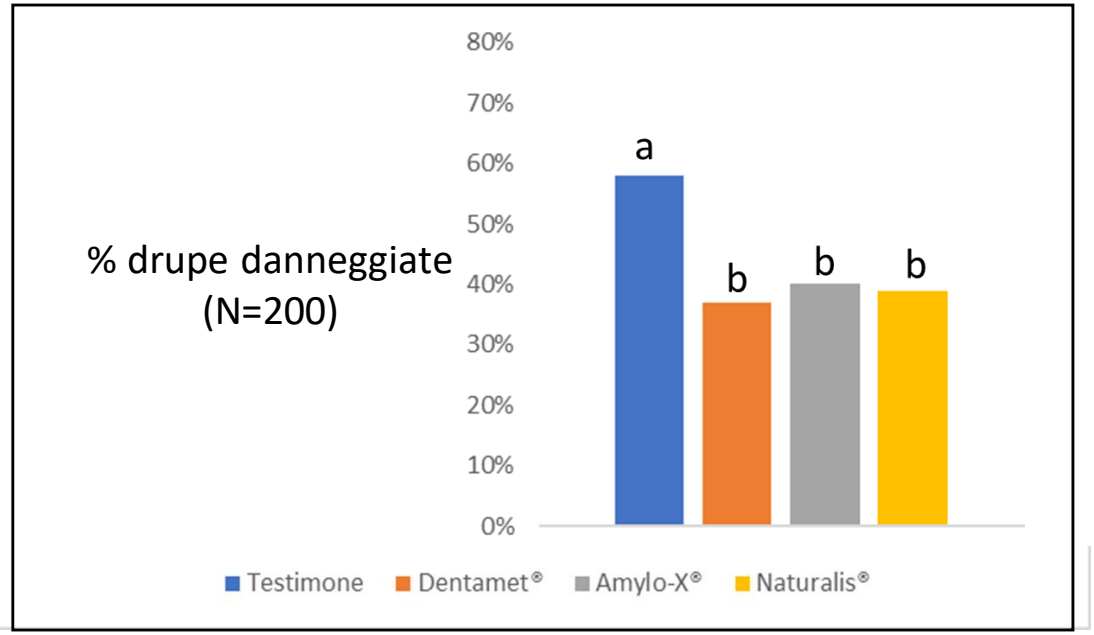
CV Leccio del Corno

Multivarietali, prevalenza di CV Leccino

Risultati

SENECA





Conclusioni

Pomacee:

- Diversa preferenza varietale da parte di *H. halys* → diversi livelli di danno.

- Efficacia significativa di tutti i prodotti saggiati con alti livelli di infestazione, migliore performance con basse infestazioni data dall'Amylo-X® →meccanismo di azione in fase di studio.

Olivo:

- La composizione diversificata degli appezzamenti utilizzati ha influenzato la variabilità del numero di stadi giovanili osservato durante la stagione.

- Efficacia significativa di tutti i prodotti saggiati.

Grazie per l’attenzione!