

REPUBBLICA ITALIANA



Regione Siciliana
**ASSESSORATO REGIONALE DELL'AGRICOLTURA, DELLO
SVILUPPO RURALE
E DELLA PESCA MEDITERRANEA**
DIPARTIMENTO REGIONALE DELL'AGRICOLTURA



DOCUMENTI TECNICI

Linee guida per la predisposizione del piano di controllo dei punti critici e di gestione dei rischi connessi agli organismi nocivi - Reg. 827/2019

PROCEDURA OPERATIVA STANDARD – POS

VITE e VITE ORNAMENTALE

Allegato II

Schede tecniche Organismi Nocivi

Rev.1.0



L'aleurodide spinoso degli agrumi *Aleurocanthus spiniferus*

L'insetto

L'aleurodide spinoso degli agrumi, *Aleurocanthus spiniferus*, è presente anche in Sicilia. E' un insetto appartenente all'ordine dei Rincoti e alla famiglia degli Aleurodidi, originario dell'Asia. In Italia è stato segnalato per la prima volta in Puglia, nel 2008, e si è diffuso in altre regioni del sud e del centro-nord. Gli adulti assomigliano a piccoli moscerini (1,4-1,7 mm di lunghezza) con ali di colore grigio bluastrò, segnate da macchie chiare. Le uova vengono deposte sulla pagina inferiore delle foglie, dove l'insetto compie il suo ciclo biologico. Gli stadi giovanili sono quattro, di cui solo il primo si muove, essendo dotato di zampe, mentre gli altri ne sono privi e rimangono fissi sulla superficie delle foglie. Essi sono di forma ovoidale, di colore nero, circondati da una caratteristica frangia cerosa bianca e presentano lunghe spine filamentose lungo la parte periferica del corpo.



Adulti e uova



Stadi giovanili



Fumaggine su foglia e frutto

Piante ospiti e danni

Aleurocanthus spiniferus infesta principalmente gli agrumi, ma può colonizzare altre piante di interesse agrario, quali kaki, melograno, vite, melo, pero, fico, e piante ornamentali, come edera, rosa, lauroceraso, piracanta, *Parthenocissus*. L'insetto è dotato di apparato boccale pungente-succhiante, con il quale si nutre della linfa delle piante, ed espelle abbondanti quantità di "melata" appiccicosa, che imbratta la superficie delle foglie e sulla quale si sviluppa la fumaggine. Un'infestazione elevata determina il deperimento delle piante e il deprezzamento dei frutti.

Non punge l'uomo e gli animali domestici

Ai sensi del Regolamento (UE) 2019/2072 *Aleurocanthus spiniferus* è un insetto da quarantena rilevante per il territorio dell'Unione Europea e ne è vietata la diffusione.

Chiunque rilevi la presenza dell'insetto deve darne tempestiva comunicazione agli uffici del Servizio Fitosanitario Regionale competenti per territorio

PROCEDURE DI INDAGINE PER:

1- Nome comune dell'organismo/Common name of the pest

MOSCA ORIENTALE DELLA FRUTTA/ORIENTAL FRUIT FLY

2 - Nome scientifico/Scientific name

Bactrocera dorsalis (Hendel)

Synonyms (EFSA, 2019): among others *Bactrocera ferruginea* Bezzi, 1913; *Bactrocera invadens* Drew, Tsuruta &

White, 2005; *Bactrocera papayae* Drew & Hancock, 1994; *Bactrocera philippinensis* Drew & Hancock, 1994; *Bactrocera (Bactrocera) variabilis* Lin & Wang, 2011; *Chaetodacus ferrugineus* Bezzi, 1916; *Chaetodacus ferrugineus* var. *dorsalis* Hendel, 1915; *Chaetodacus ferrugineus dorsalis* Bezzi, 1916; *Chaetodacus ferrugineus* var. *okinawanus* Shiraki, 1933; *Dacus ferrugineus* (Fabricius, 1805); *Dacus dorsalis* Hendel, 1912; *Dacus (Bactrocera) semifemoralis* Tseng, Chen & Chu, 1992; *Dacus (Bactrocera) yilanensis* Tseng, Chen & Chu, 1992; *Musca ferruginea* Fabricius, 1794; *Strumeta dorsalis* Hering, 1956; *Strumeta ferruginea* Hering, 1956; *Strumeta dorsalis okinawana* Shiraki, 1968.

3 – EPPO Code:

DACUDO

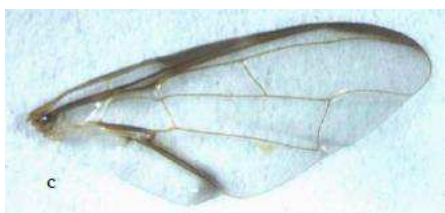
4 - Posizione tassonomica / Taxonomy

- Phylum: Arthropoda
- Subphylum: Hexapoda
- Classe: Insecta
- Ordine: Diptera
- Famiglia: Tephritidae
- Genere: *Bactrocera*
- Specie: *Bactrocera dorsalis*

5 - Morfologia e biologia dell'organismo/*Morphology and biology of the pest*



Gli adulti hanno una lunghezza di circa 6-8 mm. La femmina ha un ovopositore affusolato che è di solito tra 1,4 e 1,6 mm di lunghezza.



Le ali di entrambi i sessi hanno una lunghezza di circa 6-7 mm e sono contrassegnate da una banda sottile e marrone lungo il margine e una banda marrone diagonale dalla base dell'ala al bordo posteriore.

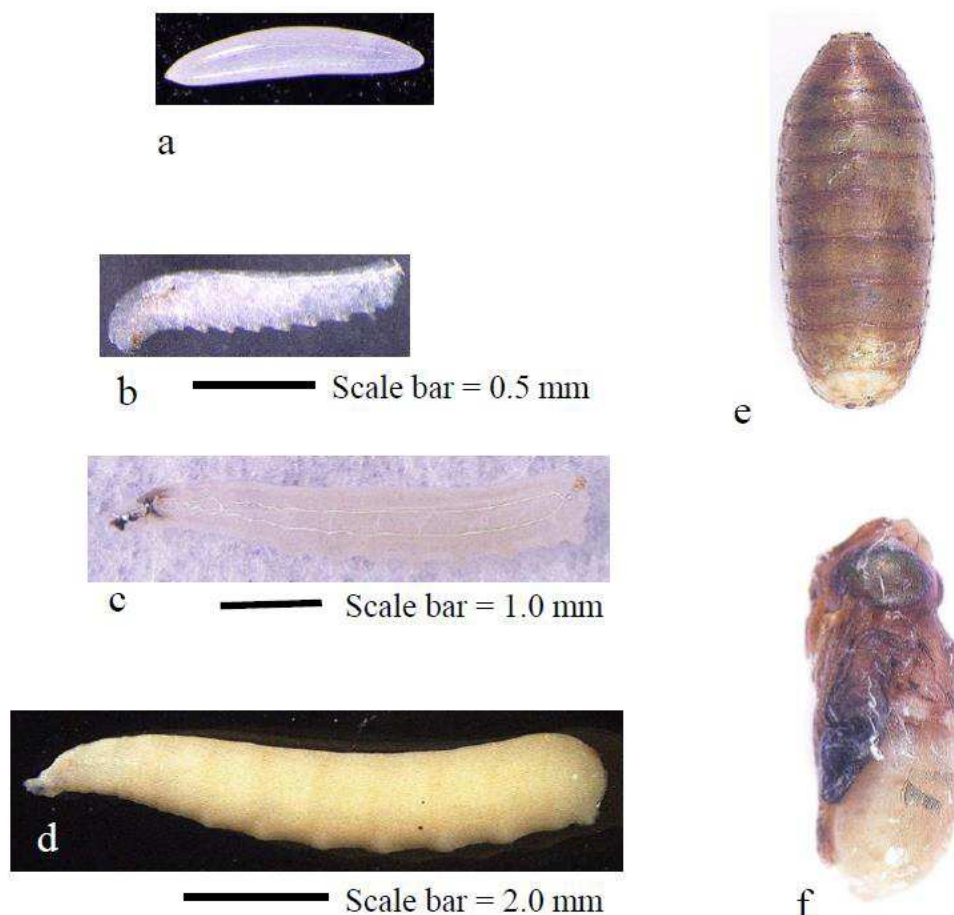


Dorsalmente il torace ha un colore di base scuro e due strisce gialle brillanti chiamate vitte e la parte posteriore (scutello) anch'essa gialla. Anche lateralmente il torace presenta delle altre macchie / strisce gialle. L'addome è giallastro /brunastro e medialmente è presente un tipico disegno nero a forma di T.

Gli stadi immaturi sono larve dal color crema al giallastro che raggiungono 7,5-10,0 mm di lunghezza e vivono a spese della polpa dei frutti.

Gli stadi pupali sono marroncino chiaro o scuro.

Molte volte la diagnostica non è di facile applicazione in quanto sono state riportate evidenze di ibridazione tra specie diverse di *Bactrocera* in condizioni di laboratorio (McInnis et al., 1999; Ebina and Ohto, 2006; Schutze et al., 2013) e alcune di queste hanno corroborato i lavori successivi di sinonimia tra *B. invadens* e *B. dorsalis* (Delomen et al., 2013; Jalani et al., 2014, Schutze et al., 2014).



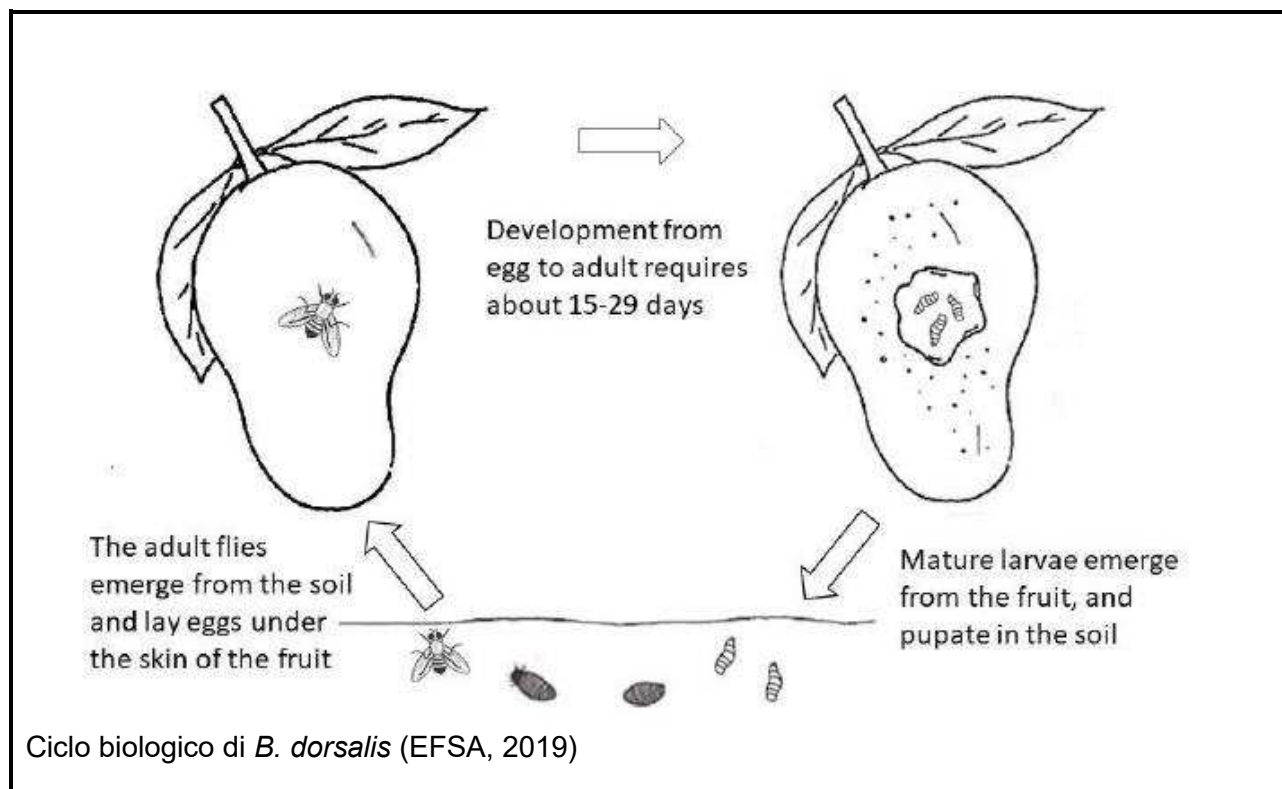
Stadi preimmaginali di *Bactrocera dorsalis*: (a) uovo; (b) larva di prima età; (c) larva di seconda età; (d) larva di terza età; (f) pupa. **Pupario di *B. dorsalis*** (e)

(Foto: ISPM 27 - Diagnostic protocols for regulated pests - DP 29: *Bactrocera dorsalis*. Adopted 2019; published 2019)

Gli adulti sono presenti tutto l'anno in habitat tropicali dove i frutti ospiti sono continuamente presenti. In condizioni naturali, lo stadio di uovo dura in genere 1-3 giorni, lo stadio larvale 9-16 giorni, il periodo pupale 10-12 giorni o più, e il periodo di riproduzione pre-riproduttiva 8-12 giorni. La durata della vita di un adulto è in genere di 1-3 mesi, sebbene siano stati notati individui più longevi. Compie 6-7 generazioni all'anno alle Hawaii. Il ciclo di vita in Florida è indicativamente di circa 30 giorni durante i mesi caldi. Le femmine depongono gruppi di 3-15 uova nei frutti dell'ospite. La fecondità femminile media è tra 1.200 e 1.500 uova, con un massimo di 3.000 uova. Le temperature minime e massime di sviluppo dei diversi stadi di *B. dorsalis* sono quelle appresso riportate in tabella (Samayoa et al. 2018)

Parametri	Stadi di sviluppo		
	Uovo	Larva	Pupa
T _{Min}	9,75	10,24	12,00
T _{Max}	36,22	36,40	79,48

Gli adulti della mosca orientale della frutta iniziano ad emergere dai pupari svernanti quando la temperatura del suolo è superiore a 16°C, la temperatura ottimale è di 19 - 22°C.



6 - Piante ospiti/Hosts

Bactrocera dorsalis attacca i frutti di oltre 400 diverse specie vegetali. Alle Hawaii, i frutti in grado di ospitare l'ovideposizione del dittero includono fico, nespolo, mango, arancia, pesca, prugna, sapote, annona (soursop), ciliegio del Suriname, mandarino, mandorla tropicale e guava. In studi cinesi è descritto che l'adulto di *B. dorsalis* danneggia, frutti con il seguente ordine decrescente:

guava > carambola > pesco > mango > nespolo (dato non confermato nella regione di Suzhou) > arancio > giuggiola (*Ziziphus jujuba*) > pera > cedro > papaia > melograno (CHEN Jing-yun et al. 2011).

In Italia, nel piano di sorveglianza nazionale, sono state considerate come specie ospiti a maggior rischio fitosanitario: *Citrus paradisi*; *Citrus reticulata*; *Citrus sinensis*; *Citrus x paradisi*; *Citrus x tangelo*; *Diospyros kaki*; *Eriobotrya japonica*; *Ficus carica*; *Fortunella japonica*; *Prunus persica* (fra gli ospiti principali); *Phaseolus vulgaris*; *Prunus avium*; *Prunus domestica*; *Prunus salicina*; *Punica granatum*; *Pyrus communis*; *Pyrus pyrifolia*; *Solanum lycopersicum*; *Solanum melongena*; *Vitis vinifera*; *Capsicum annum*; *Citrullus lanatus*; *Citrus aurantiifolia*; *Citrus limon*; *Citrus maxima*; *Cucumis melo*; *Cucumis sativus*; *Cucurbita maxima*; *Cucurbita pepo*; *Lycopersicon esculentum*; *Malus domestica*; *Morus alba*; *Morus nigra* (fra gli ospiti secondari)

L'elenco completo delle specie vegetali i cui frutti ospitano gli stadi preimmaginali della mosca orientale della frutta è riportato in allegato 1 ed è stato redatto integrando elementi acquisiti da diverse banche dati e dalla consultazione di articoli di recente pubblicazione, riportati nella bibliografia dello stesso allegato.

7 - Siti a rischio da monitorare/Typology of location to be surveyed

Il rischio maggiore d'introduzione di *B. dorsalis* deriva dall'importazione di frutta infestata contenente uova e/o larve del tefritide, come parte di un carico proveniente da un Paese in cui la mosca è presente e diffusa.

Le intercettazioni avvenute in Italia hanno riguardato sia prodotti ortofrutticoli appartenenti a spedizioni commerciali, sia frutti introdotti sul territorio nazionale all'interno di bagagli a seguito di passeggeri provenienti da Paesi quali il Bangladesh e lo Sri Lanka.

Le aree a rischio devono essere stabilite dai SFR ponderando diversi fattori tra i quali aree potenzialmente sensibili:

- aree di produzione di frutti sensibili;
- aree marginali alle aree di produzione;
- aree urbane a elevato rischio d'introduzione per la presenza di comunità originarie di Paesi terzi in cui la mosca è presente;
- punti d'ingresso (porti ed aeroporti e magazzini doganali di primo stoccaggio della frutta importata);
- altre aree a elevato rischio come i mercati ortofrutticoli, magazzini che trattano frutta esotica, ecc.

PARTE A - MONITORAGGIO/SURVEY

Normativa di riferimento su modalità di monitoraggio:

- **EUROPEA:** Regolamento delegato (UE) 2019/1702 della Commissione del 1 agosto 2019 che integra il regolamento (UE) 2016/2031 del Parlamento europeo e del Consiglio stabilendo l'elenco degli organismi nocivi prioritari;
- **NAZIONALE:** Piano di azione nazionale approvato da CFN nella seduta del nella seduta del 22 marzo 2019 – composto da : PIANO DI SORVEGLIANZA NAZIONALE, PIANO DI EMERGENZA e PIANO D'AZIONE.

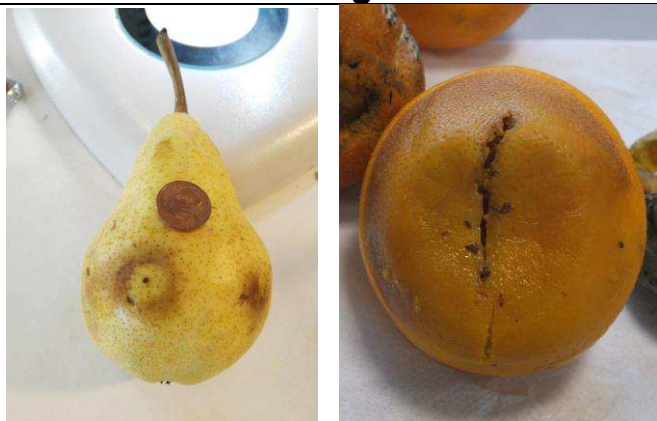
Standards di riferimento su modalità di monitoraggio:

- **FAO - ISPM:** ISPM 26: Establishment of pest free areas for fruit flies (Tephritidae)

Misure di monitoraggio:

- ✓ Ispezione visiva – *Visual inspection*
- ✓ Monitoraggio con trappole - *Trapping*
- ✓ Campionamento – *Sample taking*

Ispezione visiva/*Visual inspection*

Quando	Cosa guardare	Immagini
<p>- TUTTO L'ANNO</p> <p>Nei Punti di Ingresso Frontalieri o in aree considerate a rischio fitosanitario per l'ingresso di questo pest.</p> <p>- TARDA PRIMAVERA – AUTUNNO</p> <p>In campo, durante il periodo di marutazione della frutta.</p>	<p>Danni su frutti in via di maturazione provocati dalla puntura di ovideposizione effettuata dalle femmine che provoca marcescenze acute dall'ingresso di microrganismi fungini.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Foro di ovideposizione con inizio marcescenza della polpa • Frutti in marcescenza con larve interne 	

Monitoraggio con Trappole/*Trapping*

Il monitoraggio con trappole è alla base del Piano di sorveglianza nazionale per *Bactrocera dorsalis*.

Così come previsto dal Piano di Sorveglianza Nazionale, nelle aree libere da mosca orientale della frutta, il monitoraggio dovrà essere effettuato principalmente attraverso l'utilizzo di trappole attrattive. Le trappole, tipo *McPhail*, attivate con il metileugenolo risultano efficaci nell'individuazione precoce dell'organismo alieno - "Early detection" (EPPO database - PRA record for *Bactrocera invadens*).

Densità delle trappole suggerita per *Bactrocera dorsalis* (ISPM 26)

Tipologia di monitoraggio	Tipo di trappola	Attrattivo	Densità trappole /km ²			
			Area produttiva	Area marginale	Area urbana	Punti d'ingresso
Indagini per la Sorveglianza del territorio	ChamP trap Easy trap Jackson trap Lynfield trap McPhail trap Multilure trap Maghreb-Med or Morocco trap Steiner trap	Cuelure Methyl eugenol Attrattivi alimentari proteici	0,25-1,00	0,2-0,5	0,2-0,5	0,2-0,5

Quando	Cosa guardare	Immagini
<p>APRILE - NOVEMBRE</p>	<p>Adulti, sia maschi che femmine, catturati da trappola innescata con paraferomone Metileugenolo e attrattivo alimentare (es Torula, lieviti vari)</p>	<div data-bbox="861 268 1380 907" data-label="Image"> </div> <p data-bbox="1013 974 1268 1008">TRAPPOLA McPhail</p> <div data-bbox="869 1052 1412 1713" data-label="Image"> </div> <p data-bbox="1045 1758 1236 1792">REBELL TRAP</p>

Modalità di gestione campioni biologici presenti nella trappola (da all.3 Piano sorveglianza nazionale):

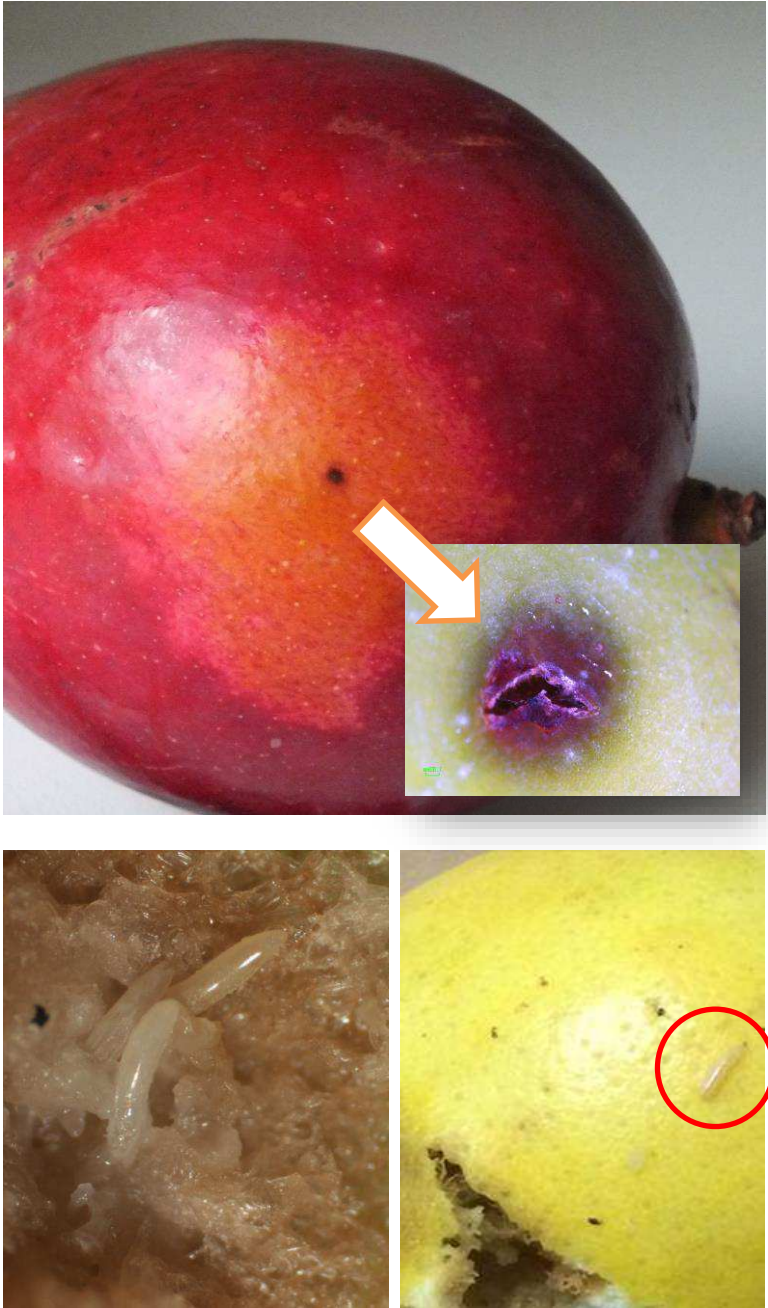
- 1) In presenza di SOLI individui MORTI all'interno della trappola

- ruotare il fondo al fine di separarlo dal coperchio superiore;
- recuperare delicatamente ogni campione con l'ausilio di una pinzetta morbida, al fine di evitare danni;
- inserire ogni campione in un singolo contenitore a chiusura ermetica (tipo eppendorf o falcon);
- scrivere sul contenitore il codice del campione, il numero o codice della trappola, luogo, data con un pennarello indelebile;
- posizionare i contenitori in busta di plastica chiusa;
- riportare le informazioni dei campioni anche sulla busta- contenitore (il numero o codice della trappola, luogo, data, numero di campioni contenuti nella busta);
- conservare la busta in borsa frigo o frigorifero (se in dotazione) e trasportarla presso il laboratorio di riferimento;
- in laboratorio i campioni dovranno essere conservati a -20°C sino al loro utilizzo avendo cura di staccare da ogni insetto catturato almeno la zampa anteriore destra (o in mancanza un'altra zampa) per conservarla in alcool assoluto a -20°C.

2) In presenza di individui VIVI all'interno della trappola

- staccare la trappola dal supporto e spruzzare attraverso il foro inferiore una leggera quantità di ghiaccio spray;
- verificare l'immobilità degli individui, in caso contrario spruzzare nuovamente una leggera quantità di ghiaccio spray;
- ruotare il fondo al fine di separarlo dal coperchio superiore;
- recuperare delicatamente ogni campione con l'ausilio di una pinzetta morbida, al fine di evitare danni;
- inserire ogni campione in un singolo contenitore a chiusura ermetica (tipo eppendorf o falcon);
- scrivere sul contenitore il codice del campione, il numero o codice della trappola, luogo, data con un pennarello nero indelebile;
- posizionare i contenitori in busta di plastica chiusa;
- riportare le informazioni dei campioni anche sulla busta-contenitore (il numero o codice della trappola, luogo, data, numero di campioni contenuti nella busta);
- conservare la busta in borsa frigo o frigorifero (se in dotazione) e trasportarla presso il laboratorio di riferimento;
- in laboratorio i campioni dovranno essere conservati a -20°C sino al loro utilizzo avendo cura di staccare almeno la zampa anteriore destra (o in mancanza un'altra zampa) per conservarla in alcool assoluto a -20°C.

CONSULTARE INOLTRE FAO/IAEA. 2018

Campionamento/Sample taking		
Cosa prelevare	Immagini	Come conservare
<p>Frutti maturi con sintomi di ovideposizione di dittero tephritidae da cui isolare:</p> <p>➤ Uova/Larve</p>	 <p style="text-align: center;">UOVA LARVE</p>	<p>Conservare le uova o le larve di dittero raccolte dai frutti ispezionati, singolarmente in alcool puro per l'identificazione molecolare.</p>

PARTE B – INFORMAZIONI SULLO STATUS del PEST

Inquadramento normativo

- **EUROPEA:**

Direttiva UE 29/2000 – Allegato 1 – Organismo di quarantena fitosanitaria per il territorio europeo;

Bactrocera dorsalis – organismo prioritario UE – stabilito dal Regolamento delegato (UE) 2019/1702 della Commissione del 1 agosto 2019 che integra il regolamento (UE) 2016/2031 del Parlamento europeo e del Consiglio stabilendo l'elenco degli organismi nocivi prioritari;

Inquadramento EPPO

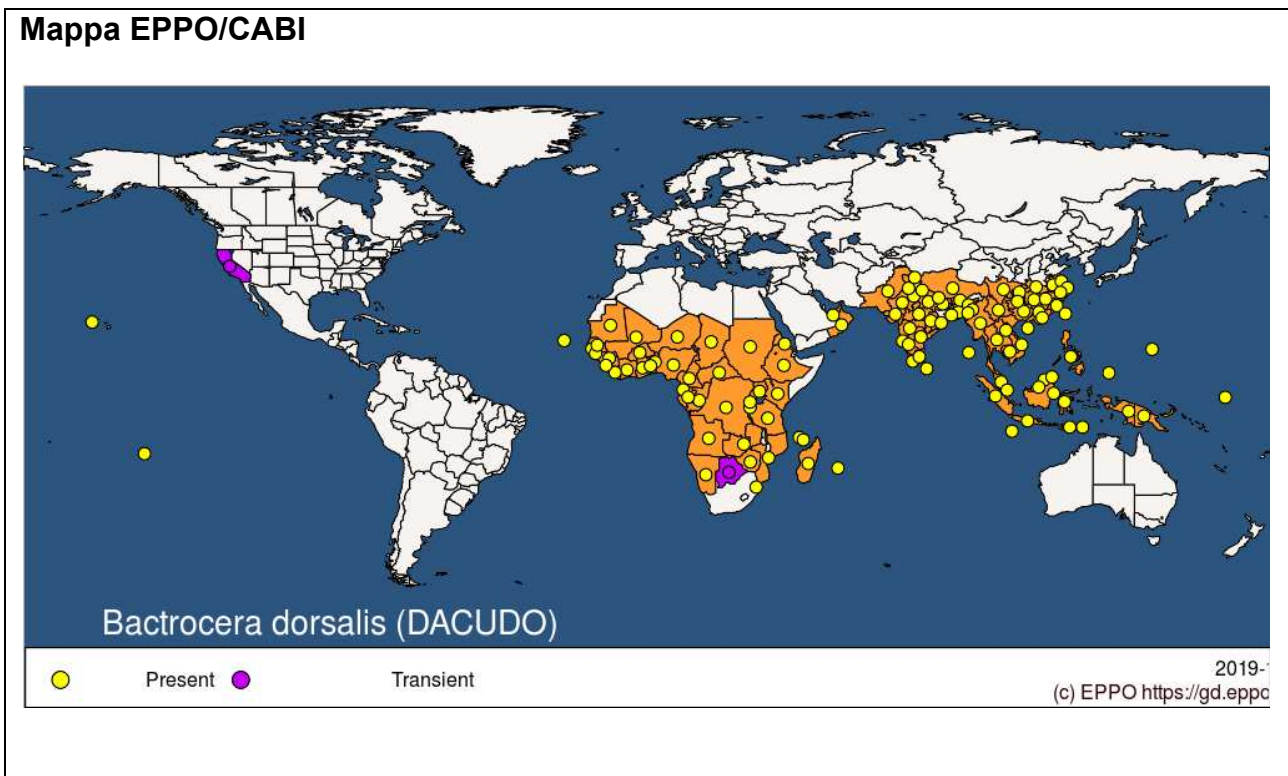
EPPO – Lista A1 - List of pests recommended for regulation as quarantine pests

Origini:

L'areale d'origine di *B. dorsalis* è sud est asiatico

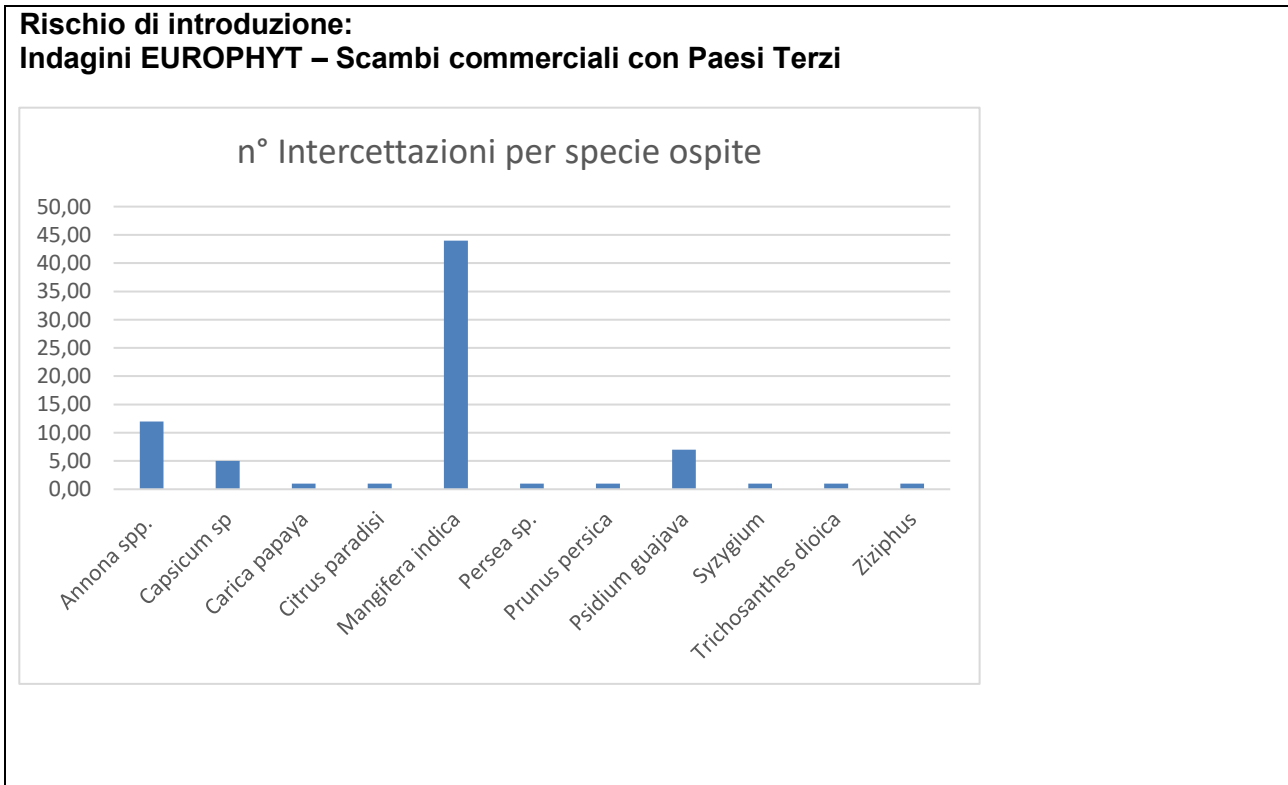
Distribuzione:

- Area EPPO: assente
- EU: Assente
- Asia: Bangladesh, Bhutan, Cambogia, Cina (Sud: Fujian, Guangdong, Guangxi, Guizhou, Hainan, Hunan, Sichuan, Yunnan), Hong Kong, India (principalmente nord: Assam, Bihar, Delhi, Haryana, Jammu e Kashmir, Karnataka, Maharashtra, Manipur, Orissa, Punjab, Rajasthan, Sikkim, Tamil Nadu, Uttar Pradesh, West Bengal), Giappone (Ryukyu Arcipelago, eradicata nel 1985), Lao, Myanmar, Nepal, Pakistan, Sri Lanka, Taiwan, Thailand (nord), Emirati Arabi Uniti, Viet Nam.
- Nord America: Focolai in USA (California, Florida), eradicato (FAO, 1987) ma nuovi focolai ancora in California e in Florida nel 1989 e in anni successivi. Riportato nelle Hawaii dal 1945.
- Oceania: Guam (1947, eradicated), Nauru. Un focolaio nel Northern Mariana Islands (Rota) che è stato eradicato (Nakagawa et al., 1968) e Polinesia Francese (1996).
- Africa: Kenya (2003), in pochi anni *B. dorsalis* si è sviluppata attraverso tutta la regione subsahariana.



Presenza e/o segnalazioni in Italia:

Non insediata; Transiente (EPPO status) – intercettati adulti maschi 2018 – 2019





INTERCETTAZIONI ULTIMI 5 ANNI *BACTROCERA DORSALIS*

Country of Export	Year	Object	Plant Species
Uganda	2019	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (1)
Philippines	2019	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (1); <i>Annona muricata</i> (1)
Burkina faso	2019	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (1)
Bangladesh	2019	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (1)
Thailandia	2018	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (1)
Sri Lanka	2018	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Syzygium</i> (1)
Mali	2018	Plant products: others	<i>Mangifera indica</i> (1)
Cote D'Ivoire	2018	Plant products: others	<i>Mangifera indica</i> (1)
Cote D'Ivoire	2018	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (3)
Vietnam	2017	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Psidium guajava</i> (1); <i>Annona</i> (1)

Thailandia	2017	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Annona squamosa</i> (2)
Senegal	2017	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (12)
Pakistan	2017	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Manilkara zapota</i> (1)
Mali	2017	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (5)
Malaysia	2017	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Psidium guajava</i> (1)
Lao People's democratic republic	2017	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Annona muricata</i> (1)
India	2017	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Ziziphus</i> (1)
Burkina faso	2017	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (5)
Vietnam	2016	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Syzygium samrangense</i> (1); <i>Syzygium jambos</i> (1); <i>Annona</i> (1)
Togo	2016	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (1)
Thailandia	2016	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (3)
Thailandia	2016	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Annona squamosa</i> (1)
Senegal	2016	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (3)
Mali	2016	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (14)
Indonesia	2016	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Psidium guajava</i> (1)
Camerun	2016	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (3); <i>Citrus</i> <i>maxima</i> (1)
Burkina faso	2016	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (4)
Bangladesh	2016	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (1)
Vietnam	2015	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (2)
Thailandia	2015	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (1); <i>Capsicum</i> <i>sp</i> (1)

Philippines	2015	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Annona muricata</i> (1)
Madagascar	2015	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Mangifera indica</i> (2)
Lao People's democratic republic	2015	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Capsicum sp</i> (1)
India	2015	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Psidium guajava</i> (1) <i>Prunus persica</i> (1)
Camerun	2015	Other living plants: fruits and vegetables	<i>Psidium guajava</i> (1); <i>Persea sp.</i> (1); <i>Mangifera indica</i> (1); <i>Carica papaya</i> (1); <i>Capsicum sp</i> (1)

PARTE C – DIAGNOSI

<p>Normativa di riferimento per protocolli diagnostici:</p> <p><u>EUROPEA:</u></p> <p><u>NAZIONALE:</u></p>
<p>Protocolli standard di riferimento</p> <p><u>ISPM:</u> ISPM 27 Diagnostic protocols for regulated pests - DP 29: <i>Bactrocera dorsalis</i></p>

<p>Tipologia di test per identificazione (riportato in IO 05)</p> <p>(IV) Morphological identification</p> <p>- (XV) PCR</p> <p>- (XIX) PCR+Sequencing (va indicato quando si fa insieme la PCR e si invia al sequenziamento)</p> <p>- (XX) Real Time PCR</p> <p>L'identificazione è comunemente basata sull'esame degli adulti e si effettua tramite analisi morfologica e molecolare.</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Identificazione morfologica (cod. IO 05 IV):</u> richiede un'analisi attenta degli adulti catturati oppure ottenuti dall'allevamento delle larve raccolte da frutti infestati. Si consiglia di consultare le chiavi presenti nel documento FAO ISPM 27 - Diagnostic protocols for regulated pests - DP 29: <i>Bactrocera dorsalis</i> - <u>Identificazione molecolare (cod. IO 05 XV, XIX, XX):</u> Le tecniche di identificazione molecolare possono fornire informazioni utili per supportare le identificazioni morfologiche. Il sequenziamento del DNA delle regioni 1 (ITS1) o 2 (ITS2) è stato proposto come un modo affidabile per distinguere tra le specie <i>B. carambolae</i> e <i>B. dorsalis</i> s.l. (Boykin et al., 2014; Schutze et al., 2015a). Plant Health Australia (2016) ha pubblicato un protocollo

diagnostico per l'identificazione delle specie di *Bactrocera* usando i metodi biomolecolari (cod. IO 05 XIX). Tale documento riassume tre opzioni molecolari per l'identificazione:

1. PCR convenzionale e polimorfismo della lunghezza dei frammenti di restrizione (RFLP) della regione ITS1 (Plant Health Australia, 2016) (cod. IO 05 XV),
2. analisi PCR-RFLP di un segmento di matrice ribosomiale del DNA, comprese le regioni geniche ITS1 e 18S (Armstrong et al., 1997; Armstrong e Cameron, 2000). (cod. IO 05 XV)
3. DNA barcoding del gene della citocromo ossidasi I (COI) (Armstrong and Ball, 2005) (cod. IO 05 XV)

Si consiglia anche in questo caso di consultare i protocolli indicati nel documento ufficiale FAO - FAO ISPM 27 - Diagnostic protocols for regulated pests - DP 29: *Bactrocera dorsalis*

Riferimenti Bibliografici

Boykin, L.M., Schutze, M.K., Krosch, M.N., Chomic, A., Chapman, T.A., Englezou, A., Armstrong, K.F. et al. 2014. Multi-gene phylogenetic analysis of the south-east Asian pest members of the *Bactrocera dorsalis* species complex (Diptera: Tephritidae) does not support current taxonomy. *Journal of Applied Entomology*, 138: 235–253.

Plant Health Australia. 2016. *The handbook for the identification of fruit flies*, version 2.1. Canberra, Plant Health Australia. 314 pp.

Armstrong, K.F., Cameron, C.M. & Frampton, E.R. 1997. Fruit fly (Diptera: Tephritidae) species identification: A rapid molecular diagnostic technique for quarantine application. *Bulletin of Entomological Research*, 87: 111–118.

Armstrong, K.F. & Cameron, C.M. 2000. Species identification of tephritids across a broad taxonomic range. In: K.H. Tan, ed. *Area-wide control of fruit flies and other insect pests*, pp. 703–710. Penang, Malaysia, CABI Publishing.

Armstrong, K.F. & Ball, S.L. 2005. DNA barcodes for biosecurity: Invasive species identification. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 360: 1813–1823.

Chen J Y, Cai P, Zhang G B, Sun Z J. 2011. Research progress of occurrence and comprehensive control of oriental fruit fly [*Bactrocera dorsalis* (Hendel)]. *Plant Diseases and Pests*, 2, 42–47.

Delomen, MLC, Mendioro, MS, Diaz, MGQ. 2013. Morphometric analysis and DNA barcoding of fruit flies *Bactrocera occipitalis* (Bezzi) and *B. philippinensis* Drew and Hancock (Diptera: Tephritidae) from Cavite and Davao del Norte. *Philippine Journal of Science*, 142: 69–76.

Ebina T, Ohto K. 2006. Morphological characters and PCR-RFLP markers in the interspecific hybrids between *Bactrocera carambolae* and *B. papayae* of the *B. dorsalis* species complex (Diptera: Tephritidae). *Research Bulletin of Plant Protection Japan*. 42: 23–34.

EFSA (European Food Safety Authority), Loomans A, Diakaki M, Kinkar M, Schenk M and Vos S, 2019. Pest survey card on *Bactrocera dorsalis*. EFSA supporting publication 2019: EN-1714. 24 pp. doi:10.2903/sp.efsa.2019.EN-1714

FAO 1987. Outbreaks and new records. USA. Eradication of Oriental fruit fly. *FAO Plant Protection Bulletin*. 35: 166.

FAO/IAEA. 2018. Trapping guidelines for area-wide fruit fly programmes, Second edition, by Enkerlin, W.R. and Reyes-Flores, J. (eds). Rome, Italy. 65 pp. URL: [http://www-naweb.iaea.org/nafa/ipc/public/Trapping-guideline-\(002\).pdf](http://www-naweb.iaea.org/nafa/ipc/public/Trapping-guideline-(002).pdf) (last accessed 6 March 2018).

Jalani GSP, Laude RP, Diaz MGQ, Medina CdR, Velasco LRI. 2014. Genetic diversity of natural populations of *Bactrocera occipitalis* (Bezzi) and *B. philippinensis* Drew and Hancock (Diptera: Tephritidae) in selected mango producing areas in the Philippines using microsatellites. *Agrivita*: 36: 217–228.

McInnis DO, Rendon P, Jang, E, Van Sauers-Muller, A, Sugayama R, Malavasi A. 1999. Interspecific mating of introduced, sterile *Bactrocera dorsalis* with wild *B. carambolae* (Diptera: Tephritidae) in Suriname: A potential case for cross-species Sterile Insect Technique. *Annals of the Entomological Society of America*. 92: 758–765.

Nakagawa S, Farias GJ, Urago T. 1968. Newly recognized hosts of the Oriental fruit fly, melon fly, and Mediterranean fruit fly. *Journal of Economic Entomology*, 61: 339-340.

Samayoa AC, Choi KS, Wang Y-S, Hwang S-Y, Huang Y-B, Ahn JJ. 2018. Thermal effects on the development of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) and model validation in Taiwan. *Phytoparasitica*. 46: 265–376.

Schutze MK, Jessup A, Ul-Haq I, Vreysen MJB, Wornoayporn V, Vera MT, Clarke AR. 2013. Mating compatibility among four pest members of the *Bactrocera dorsalis* fruit fly species complex (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*. 106: 695–707.

Schutze MK, Aketarawong N, Amornsak W, Armstrong KF, Augustinos A, Barr N, Bo W, Bourtzis K, Boykin LM, Cáceres C, et al. 2014. Synonymization of key pest species within the *Bactrocera dorsalis* species complex (Diptera: Tephritidae): Taxonomic changes based on a review of 20 years of integrative morphological, molecular, cytogenetic, behavioural and chemoecological data. *Systematic entomology*. 40: 456–471.

Schutze, M.K., Aketarawong, N., Amornsak, W., Armstrong, K.F., Augustinos, A.A., Barr, N., Bo, W. et al. 2015a. Synonymization of key pest within the *Bactrocera dorsalis* species complex (Diptera: Tephritidae): Taxonomic changes based on a review of 20 years of the integrative morphological, molecular, cytogenetic, behavioural, and chemoecological data. *Systematic Entomology*, 40: 456–471.

Autori: Dr. Leonardo Marianelli – CREA-DC; GdL Monitoraggio Cofinanziato - UE

Cicaline della Vite (*Homoptera, Cicadellidae*) parte 1^a

Jacobiasca lybica (Bergervin & Zanon); *Empoasca vitis* (Goethe); *Scaphoideus titanus* (Ball); *Zygina rhamni* (Ferrari)



Diffusione

Jacobiasca lybica Africa, Asia, Argentina, Spagna, Portogallo, Albania, Turchia, Cipro, Sardegna e Sicilia.

Empoasca vitis Asia, Nord Africa ed Europa.

Scaphoideus titanus Nord America, Austria, Bosnia & Herzegovina, Croazia, Francia, Ungheria, Portogallo, Serbia, Italia (non segnalato in Sicilia)

Zygina rhamni Europa, Asia

Cenni di biologia

Le specie di Cicadellidi che si riscontrano con maggiore frequenza nei vigneti in Sicilia, appartengono alla sottofamiglia ***Typhlocybinae*** e sono: ***Jacobiasca lybica*** (Berg & Zan.) nota come cicalina africana, ***Empoasca vitis*** (Goethe) o cicalina verde della vite, ***Zygina rhamni*** (Ferr.) o cicalina gialla della vite e, occasionalmente, ***Empoasca decipens*** (Paoli) o cicalina verdastra. Lo ***Scaphoideus titanus*** (Ball), vettore del fitoplasma agente causale della flavescenza dorata (FD), fa parte della sottofamiglia ***Deltocephalinae*** ed attualmente non risulta presente in Sicilia. Si tratta di specie fitomize, dotate cioè di apparato boccale pungente-succhiante con specializzazione trofica che può essere a carico del floema, soprattutto delle nervature fogliari, o del mesofillo fogliare e ciò determina la tipologia e la sintomatologia del danno.

Jacobiasca lybica o Cicalina africana: l'adulto, di dimensioni 2,5 – 3,2 mm, è di colore verde chiaro tendente al giallo, sotto il profilo morfologico è indistinguibile rispetto a *E. vitis*. La discriminazione avviene mediante osservazione al microscopio dell'armatura genitale maschile o dell'ovopositore femminile. È una specie polifaga e termofila, sverna come adulto su numerose piante erbacee e arbustive, in primavera si sposta sui vigneti, dove si accoppia e depone le uova in modo isolato entro le nervature fogliari della pagina inferiore. L'insetto ha 5-6 stadi di sviluppo preimmaginale (neanidi e ninfe, di colore verde chiaro, non sono distinguibili da quelle di *Empoasca vitis*) e compie da 4-5 generazioni l'anno (Sardegna) a 11 (Egitto), in relazione alle diverse condizioni climatiche e al tipo di pianta ospite, con generazioni che si evolvono sovrapponendosi tra loro.



Empoasca vitis o Cicalina verde della vite: l'adulto è di colore verde chiaro, di dimensioni 2,9-3,8 mm e sverna su diverse piante a foglia persistente (rovo, caprifoglio, ligustro, conifere ecc.). In primavera, al germogliamento della vite, si sposta sulle sue foglie per deporre le uova in modo isolato entro le nervature della pagina inferiore. L'insetto ha cinque stadi di sviluppo preimmaginale e compie tre generazioni all'anno che si evolvono sovrapponendosi tra loro in maniera e periodi diversi a secondo della latitudine e dell'andamento stagionale.

Scaphoideus titanus o Cicadella della flavescenza dorata: l'adulto è di colore bruno-ocraceo e di dimensioni 4,7 – 6 mm. L'insetto sverna allo stadio di uovo nelle screpolature della corteccia delle piante di vite, ha cinque stadi di sviluppo preimmaginale e compie una sola generazione all'anno.

Zygina rhamni o Cicalina gialla della vite: l'adulto, di dimensioni 3-3,5 mm, è di colore giallo crema con linee rosse a zig-zag sulle elitre. Si tratta di una specie polifaga e termofila che compie 2-3 generazioni in un anno svernando da adulto. La femmina depone le uova singolarmente nelle nervature principali e secondarie della pagina fogliare inferiore. Gli stadi giovanili sono di colore crema pallido e la ninfa possiede antenne più lunghe del corpo.



Cicaline della Vite (*Homoptera, Cicadellidae*) parte 2^a

Descrizione dei sintomi

Gli adulti e gli stadi preimmaginali (neanidi e ninfe) delle cicaline si alimentano tramite punture di suzione che effettuano nella pagina inferiore delle foglie. La cicalina gialla della vite si nutre a carico del parenchima fogliare, provocando la comparsa di macchie decolorate bianco argentate talora confluenti, mentre le altre cicaline della vite pungono le nervature principali e secondarie delle foglie e talvolta i tralci erbacei e i piccioli fogliari. Lo **S. titanus**, con la sua attività di suzione, non provoca apprezzabili sintomi nei vigneti anche perchè è presente solo con popolazioni disperse e a bassa densità, mentre esso ha un ruolo primario come pericoloso vettore del fitoplasma della flavescenza dorata. Le punture della **E. vitis** e della **J. lybica** ostacolano il flusso della linfa elaborata e provocano, nelle foglie in accrescimento, la docciatura verso la pagina inferiore della parte periferica del lembo fogliare e successivamente la necrosi del margine con ingiallimento dei tessuti nei vitigni a bacca bianca e arrossamento nei vitigni a bacca nera fino a causare il disseccamento e la caduta delle foglie. Le alterazioni cromatiche e il disseccamento iniziano dal margine fogliare e procedono in senso centripeto e compaiono solo dopo un lungo periodo di tempo (2-3 settimane) dall'inizio degli attacchi. In Sicilia, in alcune aree e soprattutto in annate con andamento climatico favorevole, si sono verificati casi di elevate infestazioni di Cicalina africana, che hanno determinato, a volte, il totale disseccamento del parenchima fogliare, l'incompleta lignificazione dei tralci ed alterazioni della maturazione dei grappoli. Le piante in questi casi hanno reagito successivamente con l'emissione tardiva di nuovi germogli. Alcuni vitigni a bacca nera, quali Nero d'Avola, Syrah, Merlot e soprattutto i giovani impianti, sono risultati più sensibili all'attacco della **Jacobiasca lybica**. Per quanto riguarda i vitigni a bacca bianca alcuni giovani impianti irrigui di varietà a maturazione precoce (es. Chardonnay), a differenza degli impianti adulti, possono subire severi danni probabilmente sia per l'abbondanza di vegetazione tenera tipica dei giovani impianti, emessa in concomitanza con il periodo di massima pullulazione della cicalina, sia per le difficoltà connesse all'effettuazione di interventi di difesa in prossimità dell'epoca di raccolta che solitamente avviene all'inizio di agosto.



Vigneti danneggiati da Cicaline
Roberto Federico, OMP Palermo



Danni su Uva a bacca nera
Roberto Federico, OMP Palermo



Danni su Uva a bacca bianca
Roberto Federico, OMP Palermo



Emissioni tardive germogli
Roberto Federico, OMP Palermo

Tecniche di monitoraggio

Il monitoraggio degli adulti delle cicaline della vite si esegue con l'ausilio di trappole cromotropiche adesive gialle, in numero di 3/ha, posizionate da metà maggio a ottobre, sul filo intermedio della spalliera, controllate e sostituite con cadenza quindicinale. Le catture degli adulti sono utili a verificare la presenza o meno di cicaline in un vigneto, ma ciò non è sufficiente ai fini della previsione del danno, in quanto lo stesso è determinato principalmente dall'attività di un certo numero di stadi giovanili presenti per foglia. Tramite l'osservazione delle trappole è invece possibile stabilire se è presente la Cicalina gialla della vite, le cicaline verdi (*E. vitis*, *J. lybica*, *Empoasca decipiens*, ed altre meno frequenti, distinguibili solo dopo attento esame delle armature genitali da effettuare al microscopio), e lo *Scaphoideus titanus*. Il monitoraggio dello Scafoideo, vettore del fitoplasma della flavescenza dorata (FD), attualmente assente in Sicilia, assume particolare importanza soprattutto nei giovani impianti che utilizzano materiale di propagazione della vite proveniente da altre regioni italiane o estere, nelle quali questa cicalina è già presente.

Ai fini della valutazione del grado di infestazione da cicaline, è necessario rilevare il numero di neanidi e ninfe presenti su circa 100 foglie/ha prelevate nella parte mediana delle piante nel periodo estivo. Per una preliminare determinazione di campo degli stadi giovanili delle cicaline ampelofaghe, può essere utile fare riferimento alla seguente chiave dicotomica:

Chiave dicotomica per gli stadi giovanili delle principali cicaline ampelofaghe:

1) Addome con due tacche nere simmetriche sull'ultimo segmento addominale; saltano se disturbati

Scaphoideus titanus

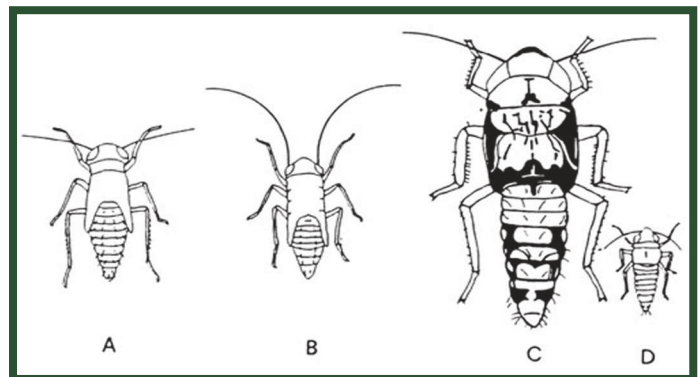
- addome privo di tacche nere; non saltano se toccati (2)

2) Corpo di colore verde o bianco perlaceo; antenne divergenti sin dalla base e mai più lunghe del corpo; se disturbati si muovono rapidamente e obliquamente

Empoasca vitis o *Jacobiasca lybica*

- corpo di colore bianco crema; le antenne, pressoché parallele nel tratto prossimale e solo distalmente divergenti, sono normalmente più lunghe del corpo; se disturbati si muovono poco e lentamente

Zygina rhamni



Disegni schematici del quinto stadio giovanile di: *Empoasca vitis* o *Jacobiasca lybica* (A); *Zygina rhamni* (B); *Scaphoideus titanus* (C). Primo stadio giovanile di *Scaphoideus titanus* (D).

Prevenzione, controllo e normativa di riferimento

La Cicalina gialla *Zygina rhamni*, nonostante la capillare diffusione nei vigneti siciliani, ha mostrato una scarsa pericolosità anche in presenza di un gran numero di individui, tanto da non giustificare alcun intervento di difesa. Per la Cicalina verde *Empoasca vitis*, la soglia di intervento prevista è di 1 – 2 neanidi-ninfe/foglia osservando 100 foglie/ha prelevate nella parte mediana delle piante nel periodo estivo nei mesi di luglio e agosto. Tale soglia si riduce per la Cicalina africana *Jacobiasca lybica* a 0,5 – 1 neanide-ninfa/foglia per i giovani impianti e per i vigneti ritenuti più sensibili. In seguito al superamento della soglia di infestazione, a partire dal mese di luglio, si può intervenire utilizzando i prodotti fitosanitari, autorizzati dal Ministero della Salute sulla vite per il controllo delle cicaline, orientandosi verso quelli caratterizzati da un favorevole profilo ecotossicologico. Le cicaline risultano molto sensibili alle più svariate sostanze attive e nelle aziende dove si attuano ordinariamente interventi di difesa con insetticidi di sintesi per il controllo delle generazioni carpopaghe della tignoletta (*Lobesia botrana*), i trattamenti possono avere valenza per entrambi i fitofagi. Inoltre i trattamenti fungicidi a base di zolfo polverulento e ancor di più quelli a base di rame, limitano le popolazioni di cicaline, sia grazie ad un effetto repellente sia perchè rendono le piante meno attraenti per i fitofagi.

In molte regioni del Nord Italia, lo *Scaphoideus titanus* è largamente diffuso e, negli ultimi anni, la presenza di questa cicalina è stata accertata, anche in alcune regioni del Sud Italia, come ad esempio la Basilicata. Il monitoraggio e il controllo di *S. titanus* rientrano tra le azioni mirate alla lotta contro il fitoplasma della Flavescenza dorata della vite, organismo da quarantena inserito negli allegati della normativa fitosanitaria comunitaria (Direttiva 2000/29/CE) e nazionale (D. Lgs. 214/2005). Il Ministero dell'Agricoltura ha inoltre emanato il D.M. di Lotta Obbligatoria alla Flavescenza dorata (FD) n. 32442 del 31/05/2000 pubblicato nella G.U. n. 159 – 10/07/2000.



Ministero delle
politiche agricole
alimentari e forestali



PROCEDURE DI INDAGINE PER:

1- Nome comune dell'organismo e della malattia/ *Common name of the pest*

Xylella fastidiosa / malattia di Pierce della vite (Pierce's disease of grapevine); mal del pennacchio del pesco (phony peach disease); clorosi variegata degli agrumi (citrus variegated chlorosis); scottatura fogliare del susino (plum leaf scald); bruscatura fogliare (leaf scorch) di varie specie vegetali (mandorlo, olivo, olmo, platano, *Acer* spp., *Morus* spp., *Quercus* spp.), sindrome del disseccamento rapido dell'olivo (olive quick decline syndrome)

2 - Nome scientifico /*Scientific name*

Xylella fastidiosa Wells *et al.* (1987)

3 – EPPO Code:

XYLEFA (*Xylella fastidiosa*)

4 - Posizione tassonomica/*Taxonomy*

- Kingdom: Bacteria
- Phylum: Proteobacteria
- Class: Gammaproteobacteria
- Order: Xanthomonadales
- Family: Xanthomonadaceae
- Genus: *Xylella*
- Species: *Xylella fastidiosa*

All'interno della specie *Xylella fastidiosa* sono state individuate dall'EFSA Panel on Plant Health (2018) sei sottospecie di seguito elencate:

- ❖ *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa*
- ❖ *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex*
- ❖ *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*
- ❖ *Xylella fastidiosa* subsp. *sandyi*
- ❖ *Xylella fastidiosa* subsp. *tashkei*
- ❖ *Xylella fastidiosa* subsp. *morus*

L'International Society of Plant Pathology Committee on the Taxonomy of Plant Pathogenic Bacteria (ISPP-CTPPB) ha riconosciuto ufficialmente valide le sottospecie *multiplex* e *fastidiosa*. Tuttavia, sulla base di studi di ibridazione DNA-DNA e di analisi di genomica comparativa (Schaad *et al.*, 2002; Marcelletti and Scortichini, 2016; Denancé *et al.*, 2019), le sottospecie formalmente accettate di Xf, sono *fastidiosa*, *pauca* e *multiplex*. Inoltre, ciascuna sottospecie include diversi *Sequence Type* (ST) determinati dall'analisi MLST (Multi Locus Sequence Typing) basata sulla tecnologia di sequenziamento Sanger di sette geni *housekeeping* (Yuan *et al.*, 2010; Nunney *et al.*, 2012).

5 – Aspetti epidemiologici dell'organismo/*Pest epidemiology*

Xylella fastidiosa è un batterio gram-negativo con un ampio numero di specie vegetali ospiti (oltre 500 tra specie erbacee e legnose), alcune delle quali di grande importanza economica (vite, agrumi, piante da frutto, caffè), oltre a specie spontanee tipiche della macchia mediterranea (ginestra, alaterno, calicotome, elicriso, rosmarino, cisto, mirto, alloro, lavanda). È un batterio asporigeno che colonizza i vasi xilematici dell'ospite contribuendo, attraverso la produzione di biofilm, all'occlusione dei vasi con conseguenze che possono portare a morte la pianta. I sintomi assomigliano a quelli causati da stress idrico. Sebbene le cellule batteriche possano muoversi sistemicamente attraverso i vasi xilematici di piante sensibili infette, in alcune piante ospiti, tuttavia, la loro presenza può rimanere limitata in alcune parti della pianta (Purcell and Saunders, 1999). Il periodo di tempo tra l'inoculazione e la comparsa di sintomi (periodo di incubazione) è altamente variabile e varia da pochi mesi ad anni, a seconda del genotipo *X. fastidiosa*, la specie ospite, lo stadio fisiologico (età) della pianta e le condizioni di crescita (EFSA 2018, 2019a). D'altra parte, alcune specie vegetali potrebbero anche non esprimere alcun sintomo, che può anche dipendere dalle condizioni di crescita (EFSA, 2019).

Il batterio è trasmesso da insetti emitteri che si nutrono succhiando la linfa dei vasi xilematici. In Italia l'insetto vettore più comune è *Philaenus spumarius* e in misura minore *Neophilaenus campestris* e *Philaenus italosignus*. *Philaenus spumarius* è presente in tutta Europa ed è una specie polifaga, con un gran numero di piante ospiti. *Philaenus italosignus* è una specie endemica in Italia e la sua presenza è ristretta all'Italia meridionale e alla Sicilia. *Neophilaenus campestris* è presente soprattutto in Europa occidentale ed è infeudato su piante erbacee.

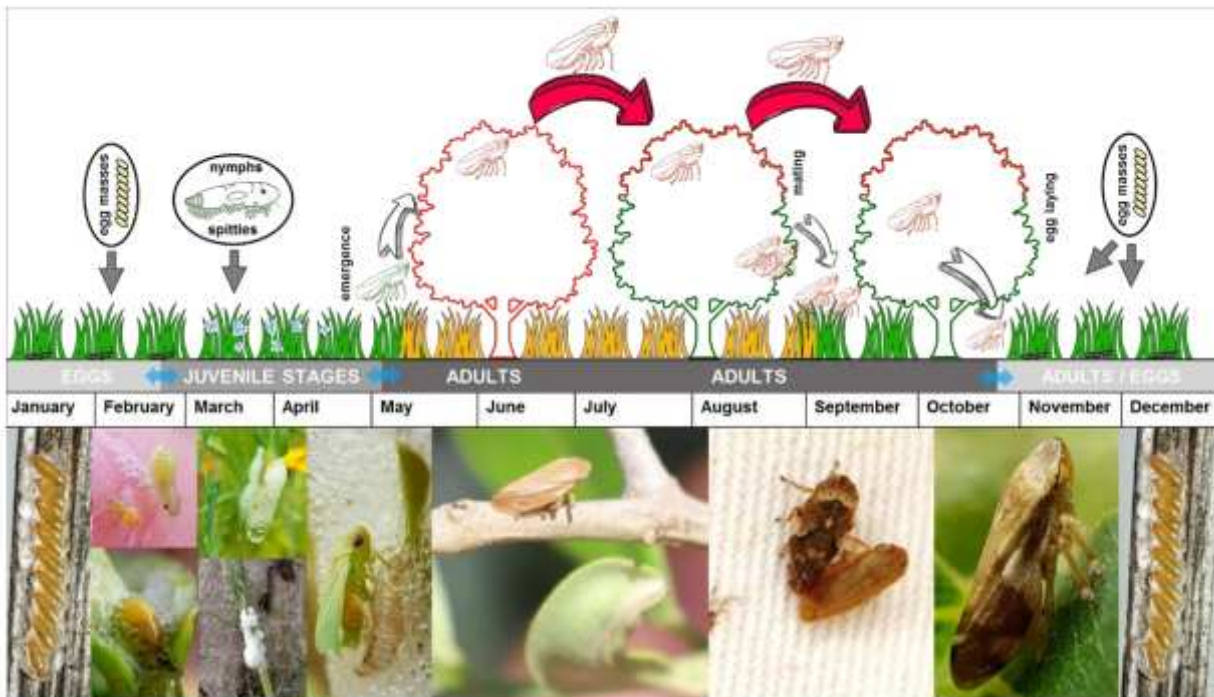


Le malattie causate da *X. fastidiosa* derivano dall'interazione tra il batterio, le piante ospiti, comprese le piante ospiti asintomatiche (che fungono da serbatoi), gli insetti vettori e le condizioni ambientali (EFSA, 2018; Chatterjee *et al.*, 2008).

Trasmissione

Il batterio viene trasmesso in modo persistente senza un periodo di latenza dopo l'acquisizione (Almeida *et al.*, 2005). I vettori (sia ninfe che adulti) acquisiscono i batteri nutrendosi nello xilema dell'ospite e possono inoculare l'agente patogeno in piante sane immediatamente dopo l'acquisizione. Nell'insetto i batteri restano limitati al canale alimentare e non colonizzano il resto del corpo in maniera sistemica. Aderiscono e si moltiplicano in parti dell'intestino quali il *precibarium* e il *cibarium*; ciò implica che i vettori perdono infettività con la muta, in quanto durante questa fase l'intestino si rinnova. Pertanto, gli adulti appena emersi devono acquisire nuovamente *X. fastidiosa* per diventare infettivi e diffonderlo. Una volta infettivi, i vettori adulti invece possono trasmettere il batterio per tutta la loro vita (Almeida *et al.*, 2005). Il batterio non viene trasmesso per via transovarica alla progenie del vettore (Freitag, 1951). Gli adulti alati, a causa della loro elevata mobilità e della loro infezione persistente, sono i principali responsabili della diffusione di *X. fastidiosa*. La trasmissione di *X. fastidiosa* a nuove piante ospiti avviene anche in presenza di pochissime cellule batteriche vive nell'intestino del vettore (Hill e Purcell, 1995). L'efficienza della trasmissione varia sostanzialmente a seconda della specie di insetto, della pianta ospite e del genotipo *X. fastidiosa*. Tutti gli insetti che si nutrono della linfa dello xilema sono considerati potenziali vettori (EFSA, 2019).

Di seguito è rappresentato il ciclo vitale di *Philaenus spumarius* nella regione Puglia (Italia) (tratto da EFSA, 2019).



Il batterio può essere trasmesso anche per attività antropica mediante la movimentazione di piante infette, materiale di propagazione vegetativo e l'innesto (EFSA PHL Panel, 2015).

Sintomi

La tipologia di sintomo dipende dalla combinazione fra la specie vegetale ospite e il ceppo di *X. fastidiosa*. I sintomi sulle specie ospiti principali (per impatto della malattia e interesse commerciale) sono riportati di seguito.

Olivo

Sintomi di bruscatura fogliare e deperimento (*dieback*) su olivo sono stati descritti in California (Krugner *et al.*, 2014) in associazione a *X. fastidiosa* subsp. *multiplex*. Tuttavia, non è stata soddisfatta la prova di patogenicità, non essendo certa la correlazione fra la presenza di *X. fastidiosa* e i sintomi.

In Puglia (sud Italia) la sindrome del disseccamento rapido dell'olivo è stata associata a *X. fastidiosa* subsp. *pauca* (Saponari *et al.*, 2013). La malattia si manifesta con brusature fogliari, disseccamento della porzione apicale e marginale della foglia e repentino disseccamento di rami e drupe in accrescimento. La chioma presenta disseccamenti a carico di rami e/o branche in maniera irregolare ('pelle di leopardo').

Il decorso della malattia porta le piante a morte.



(Foto Donato Boscia, CNR, Istituto Protezione Sostenibile Piante (IPSP), Bari)

Piante di olivo infette da *X. fastidiosa* sono state individuate in Spagna, Francia, Argentina e Brasile (Landa *et*

al., 2017; EPPO Reporting Service no. 09 – 2019; Haelterman *et al.*, 2015; Colletta-Filho *et al.*, 2016).

Varie specie vegetali (verde urbano, foreste, macchia mediterranea, materiale vivaistico)

Molte specie vegetali presentano il caratteristico sintomo della bruscatura fogliare. Esempi sono il mandorlo, il ciliegio, il mirtillo e varie specie presenti nel verde urbano come *Acer spp.*, *Cornus florida*, *Celtis occidentalis*, *Liquidambar styraciflua*, *Morus alba*, *Platanus spp.*, *Quercus spp.* e *Ulmus americana* (Gould & Lashomb, 2007), *Polygala myrtifolia*, oleandro, mimosa e specie tipiche della macchia mediterranea come rosmarino, lavanda, mirto, cisto e ginestra. Nelle specie a foglia espansa, le foglie colpite hanno una necrosi marginale talora circondata da un alone clorotico (giallo) o rosso. Nelle altre specie si osservano sintomi di disseccamento irregolari nella pianta. In generale, i sintomi progrediscono dalle foglie più vecchie alle più giovani e, con il progredire della malattia, i rami muoiono e la pianta può presentare un aspetto spoglio. Le piante possono andare incontro a morte.

Vite

Il sintomo principale su vite è la bruscatura fogliare. I margini fogliari disseccano rapidamente accompagnati da un alone clorotico, l'intera lamina fogliare può disseccare. I tessuti infetti possono maturare irregolarmente mostrando tessuti non lignificati (verdi) su tralci lignificati (livello internodi). È possibile il disseccamento dei grappoli che rimangono attaccati al tralcio, mentre il tronco non presenta alterazioni.

Agrumi

I primi sintomi fogliari appaiono come piccole macchie clorotiche sulla superficie superiore che corrispondono a macchie brune dall'aspetto gommoso sul lato inferiore della foglia. I sintomi si rendono più evidenti sulle foglie completamente espanse indipendentemente dall'età della pianta e principalmente sulle cultivar di arancio dolce. La clorosi internervale fogliare è somigliante alla carenza di zinco.

Gli alberi affetti sono stentati e la chioma va incontro a defogliazione e deperimento di rami e branche.

Fioritura e allegagione hanno un decorso normale, ma nelle piante colpite non si verifica un normale diradamento dei frutti che rimangono piccoli, maturano in anticipo e presentano una consistenza cuoiosa. Le piante di solito non muoiono, ma la resa e la qualità del frutto sono fortemente ridotte (Donadio & Moreira, 1998).

Caffè

Sintomi di bruscatura fogliare sono presenti come imbrunimenti della lamina fogliare a partire dai margini. Le foglie infette cadono prematuramente. I germogli hanno una crescita stentata e le foglie apicali appaiono clorotiche e di taglia ridotta. I margini fogliari possono essere più o meno arricciati (curling) e le piante presentano raccorciamento degli internodi e crescita stentata. I sintomi possono progredire col deperimento dei germogli. In Costa Rica sono stati riportati i cosiddetti sintomi di "crespera" in associazione a piante infette di caffè.

Pesco

Le piante infette presentano internodi raccorciati, incrementata ramificazione laterale, foglie affastellate (verde più scuro del normale), fioritura anticipata, permanenza su rami di fiori e foglie, pezzatura ridotta di frutti e maturazione anticipata. Lo sviluppo dei sintomi è lento (fino a 18 mesi). La chioma assume un aspetto compatto e arrotondato. Non si manifestano i sintomi di bruscatura fogliare.

Erba medica

La pianta mostra una crescita stentata che può non essere evidente per molti mesi dopo l'infezione. Le giovani foglie sono più piccole e spesso presentano una colorazione più scura rispetto alle piante sane. Il fittone è di dimensioni normali, ma il legno ha un colore insolitamente giallastro, con sottili strisce scure di tessuto morto. Nelle piante appena infettate si osserva un ingiallimento del legno al di sotto dello strato corticale esterno, mentre gli strati più interni non presentano alterazioni. I sintomi di nanismo peggiorano progressivamente,

eventualmente portando la pianta a morte.

6 - Piante ospiti/ Hosts

Nella letteratura scientifica (EFSA, 2019) vengono riportate un totale di 595 piante ospiti. Di queste, 343 sono state confermate con l'ausilio di almeno due diversi test molecolari per il rilevamento di *X. fastidiosa* e sono 192 le specie individuate infette in condizioni naturali o sperimentali. Ai sensi della Decisione 2015/789/EU, le seguenti specie sono a maggior rischio di infezione: *Coffea* spp., *Lavandula dentata* L., *Nerium oleander* L., *Olea europaea* L., *P. myrtifolia* L. e *Prunus dulcis* (Mill.) D.A.Webb.

In considerazione dell'elevato numero di specie ospiti di *X. fastidiosa*, è possibile trovare informazioni sulle piante ospiti e sulle sottospecie di *X. fastidiosa* in grado di infettarle, nel database delle piante ospiti dell'EFSA (EFSA, 2018; EFSA, 2020). Secondo l'ultimo rapporto EFSA del 6/4/2020 sono 595 le specie vegetali ospiti di *Xylella fastidiosa* di cui 275 generi e 85 famiglie. Il rapporto EFSA del 2020 riporta circa 37 specie vegetali in più rispetto al precedente rapporto del 2018. Il database in oggetto include tutte le specie di piante ospiti in cui l'agente patogeno è stato rilevato e segnalato. Le specie maggiormente attenzionate sono quelle ritrovate positive sul territorio Europeo che sono indicate nell'elenco della Commissione Europea soggetto a costante aggiornamento.

(https://ec.europa.eu/food/plant/plant_health_biosecurity/legislation/emergency_measures/xylella-fastidiosa/susceptible_en)

7 - Siti a rischio da monitorare/ Typology of location to be surveyed

Siti a rischio/Location

Fondamentale è monitorare tutte le attività correlate ai pathway di introduzione del batterio: commercio, movimentazione di materiale, importazione e preparazione di materiale di moltiplicazione delle piante. Di conseguenza rappresentano siti a rischio i vivai, i centri di giardinaggio, i porti, gli aeroporti, i centri di vendita di materiale vegetale di importazione da Paesi in cui è presente la malattia e le vie di comunicazione tra questi siti per il rilascio involontario del vettore.

Sono anche fattori di rischio:

- Movimento involontario di insetti vettori infetti associato al movimento di materiale vegetale da aree in cui *X. fastidiosa* è presente verso aree indenni.
- Percorsi turistici (trasporto di veicoli e imbarcazioni dalle aree in cui è presente il batterio verso aree indenni idonee alla sua stabilizzazione).
- Spostamento intenzionale di materiale vegetale da parte dei cittadini, in particolare dei collezionisti di piante.
- Attività in aree urbane correlate ad acquisto/movimentazione di piante da parte di cittadini (mercati, vivai, centri di giardinaggio).
- Campi e frutteti trascurati e abbandonati nelle aree rurali.

La tabella seguente riassume quanto sopra:

Attività a rischio	Siti a rischio
--------------------	----------------

Produzione, stoccaggio e movimentazione di piantine ospiti	Vivai e centri di giardinaggio che producono, moltiplicano e allevano piante ornamentali, piante agrarie o alberi per verde urbano, etc.
Trasporto di materiale di propagazione	- Blocchi lungo le arterie stradali principali e le ferrovie (ad es. parcheggi per camion) per i percorsi collegati alle aree infette - Aeroporti e porti con movimento di materiale vegetale da paesi in cui è presente il patogeno
Turismo	Piante ospiti vegetali, giardini e parchi in vicinanza di siti turistici

(Tratto da EFSA, 2019. Pest survey card on *Xylella fastidiosa*.)

Aree a rischio/ Risk areas

Le aree a rischio possono essere definite come le unità epidemiologiche contigue ai luoghi a rischio. La definizione delle aree a rischio intorno ad una determinata località a rischio tiene conto della capacità di diffusione del vettore e della disponibilità di piante ospiti. Sulla base dei valori indicativi di distanza per la diffusione annuale di *P. spumarius*, possono essere definite diverse aree a rischio.

1. Nel caso di un'indagine di rilevamento, vale a dire quando non è stato ancora segnalato alcun caso positivo, l'obiettivo dell'indagine è quello di comprovare l'assenza del parassita o di individuare il batterio, nel caso in cui il parassita sia presente. Per *X. fastidiosa*, che è in grado di effettuare salti a lungo raggio, è importante coprire un gran numero di aree a rischio. Supponendo che in un ambiente adatto una pianta ospite infetta rimanga persistentemente infetta e che siano presenti vettori competenti, il raggio dal luogo a rischio in cui è più probabile che si trovi il parassita dovrebbe essere di circa 150 m (EFSA, 2019a).
2. Nel caso di una attività di delimitazione di un'area in cui sia stato già effettuato un primo ritrovamento del batterio, la prima azione dovrebbe essere quella di risalire al sito di introduzione dell'organismo nocivo (ubicazione del rischio). Nell'indagine di delimitazione l'obiettivo è di individuare l'area più ristretta in cui è contenuto il patogeno attraverso la delimitazione di cerchi concentrici intorno al sito a rischio, dalla periferia verso l'interno dell'area a rischio fino al sito di rischio stesso.
Nel primo e secondo anno di introduzione del batterio, il modello di diffusione mostra che la diffusione è trascurabile (Figura 5) (gruppo di esperti scientifici PLH dell'EFSA, 2019a). Tuttavia, per i primi due anni si può considerare una distanza precauzionale di 150 m all'anno. Da anni 3 a 5, il modello di diffusione a corto raggio mostra distanze fino a 1500 m in seguito all'introduzione di *X. fastidiosa*

La tabella indica le bande intorno alle località a rischio tenendo conto del tempo trascorso dall'ultima indagine di rilevamento.

Anni dall'ultima indagine di rilevamento nel sito	Distanza dal luogo di rischio
1	0-150m
2	150-300m
3	300-500m
4	500-1000m
5	1000-1500m

(Tratto da EFSA, 2019. Pest survey card on *Xylella fastidiosa*.)

Una volta delimitata l'area in cui il parassita è in circolazione, si dovrebbe definire una zona cuscinetto intorno all'area infetta. Nel gruppo di esperti scientifici PLH dell'EFSA (2019a, tabella A.5.) l'intervallo del 95% della diffusione a lunga distanza va da circa 8 a 20 km con una media di circa 10 km all'anno.

PARTE A – MONITORAGGIO / SURVEY

Normativa di riferimento su modalità di monitoraggio:

EUROPEA:

- Regolamento di esecuzione (UE) 2020/1201 della Commissione del 14 agosto 2020 relativo alle misure per prevenire l'introduzione e la diffusione nell'Unione della *Xylella fastidiosa* (Wells et al.) che abroga la Decisione di esecuzione (UE) 2015/789.
- IPPC (2008) ISPM 31 Methodologies for Sampling of Consignments, IPPC, FAO, Rome
- Decisione di Esecuzione della Commissione del 9 ottobre 2018 n. 1511 Modifica della decisione di esecuzione (UE) 2015/789 relativa alle misure per impedire l'introduzione e la diffusione nell'Unione della *Xylella fastidiosa* (Wells et al.)

e precedenti:

- Decisione di Esecuzione della Commissione del 27 giugno 2018 n. 927
- Decisione di Esecuzione della Commissione del 14 dicembre 2017 n. 2352
- Decisione di Esecuzione della Commissione del 12 maggio 2016 n. 764
- Rettifica della Decisione di Esecuzione (UE) 2015/789 della Commissione, del 18 maggio 2015
- Decisione di Esecuzione della Commissione del 17 dicembre 2015 n. 2417
- Decisione di Esecuzione della Commissione del 18 maggio 2015 n. 789
- Decisione di Esecuzione della Commissione del 23 luglio 2014, n. 497
- Decisione di Esecuzione della Commissione del 13 febbraio 2014 n. 87

NAZIONALE:

- Decreto del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali e del Turismo del 5 ottobre 2018. Modifica del decreto ministeriale 13 febbraio 2018, concernente le misure di emergenza per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di *Xylella fastidiosa* (Wells et al.) nel territorio della Repubblica italiana. (G.U. n. 271 del 21-11-2018)
- Decreto del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali del 13 febbraio 2018. Misure di emergenza per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di *Xylella fastidiosa* (Wells et al.) nel territorio della Repubblica italiana. (G.U. n. 80 del 06-04-2018) e precedenti.
- Decreto del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali del 18 febbraio 2016. Definizione delle aree indenni dall'organismo nocivo *Xylella fastidiosa* (Wells et al.) nel territorio della Repubblica italiana. (G.U. n. 54 del 05-03-2016)

Standard di riferimento:**PM EPPO:**

- PM3/081(1) Inspection of consignments for *Xylella fastidiosa*
- PM3/082(1) Inspection of places of production for *Xylella fastidiosa*
- PM3/085(1) Inspection of places of production – *Vitis* plants for planting
- PM3/076(1) Trees of *Malus*, *Pyrus*, *Cydonia* and *Prunus* spp. – inspection of places of production
- PM1/002(28) EPPO A1 and A2 Lists of pests recommended for regulation as quarantine pests (2019)
- PM8/005(1) *Quercus*

ALTRO:

- Linee Guida della Commissione Europea (Guidelines for the survey of *Xylella fastidiosa* Wells et al. in the Union Territory -2015)
https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/ph_biosec_legis_guidelines_xylella-survey.pdf
- EFSA pest survey card su *Xylella* - <https://www.efsa.europa.eu/it/supporting/pub/en-1667>

Misure di monitoraggio:

- ✓ Ispezione visiva – *Visual Inspection*
- ✓ Campionamento* – *Sample Taking*

* materiale vegetale sintomatico e asintomatico (aree a maggior rischio di introduzione dell'organismo, vedi di seguito) e/o insetti vettori.

Secondo le linee guida della Commissione Europea, il campionamento per analisi di laboratorio dovrebbe essere effettuato allo stesso momento delle ispezioni visive

Le indagini devono concentrarsi in aree considerate a maggiore rischio di introduzione dell'organismo specificato. Le aree a maggior rischio di introduzione dell'organismo nocivo devono essere individuate tenendo conto di condizioni ambientali e climatiche, siti di produzione e pratiche agronomiche proprie del territorio. In particolare, sono considerate a rischio le seguenti aree:

- Impianti di piante specificate che presentino sintomi di deperimento;
- Vie di comunicazione che utilizzano piante specificate come alberature stradali;
- Aree di produzione e commercio di piante specificate;
- Aree non coltivate o abbandonate, parchi, aree turistiche;
- Stabilimenti che utilizzano vegetali provenienti dalla zona delimitata.

Inoltre, come riportato nelle linee guida ufficiali di monitoraggio negli stati membri dell'UE ([Guidelines for the survey of *Xylella fastidiosa* Wells et al. in the Union Territory](#)), è necessario tener conto dei sistemi commerciali esistenti in relazione ai punti di entrata principali;

- Introduzione da Paesi terzi (rischio correlato allo stato sanitario del Paese in oggetto);

- traffico commerciale all'interno dell'UE (in relazione alle aree demarcate);
- dimensioni, stagionalità, tipologia di specie vegetali, potenziale presenza di vettori associati al materiale soggetto a scambi commerciali.

In prossimità delle aree demarcate è necessario tener conto di vie principali di comunicazione, aeroporti e porti.

In relazione ai vivai è opportuno considerare, oltre alla tipologia delle specie vegetali importate, anche l'origine del materiale, i siti in cui sono collocate le piante madri, produzioni in pieno campo, siti di produzione in ambiente protetto.

Riguardo ai siti in cui vengono coltivate o mantenute piante provenienti da aree a rischio, si deve tener conto di impianti di recente costituzione, come frutteti commerciali, parchi e aree paesaggistiche; rivenditori (vivai); Garden center; mercati (in base ad una valutazione delle loro pratiche commerciali); collezioni di piante (basata sulla valutazione del rischio di importazione e di scambio di vegetali).

Ispezione visiva/*Visual inspection*

Conduzione dell'ispezione:

- PM3/081(1) Inspection of consignments for *Xylella fastidiosa*
- PM3/082(1) Inspection of places of production for *Xylella fastidiosa*
- PM3/085(1) Inspection of places of production – Vitis plants for planting
- Determinazione del Dirigente Sezione Osservatorio Fitosanitario 23 novembre 2018, n. 727 (Regione Puglia)
- Linee Guida della Commissione Europea (Guidelines for the survey of *Xylella fastidiosa* Wells et al. in the Union Territory -2015)

Il numero delle ispezioni visive deve essere definito in proporzione al rischio esistente.

Campi aperti: piante annuali e perenni devono essere ispezionate durante la stagione vegetativa (periodo ottimale tarda estate - inizio autunno)


Siti di produzione protetti: controlli durante tutto l'anno






- Vivai e centri giardino: le ispezioni dovrebbe essere effettuate secondo i cicli produttivi; campi e strutture dove crescono le piante madri dovrebbero essere ispezionate prima della raccolta del materiale di propagazione. (NB: tenere conto dei tempi di commercializzazione: fruttiferi in inverno, piante da giardino da Febbraio a Giugno)





Norme generali da prendere in considerazione:





- il batterio si moltiplica nell'ospite preferibilmente a temperature medio-alte
- tessuto ideale per specie arboree perenni e specie a foglia caduca: foglie mature con picciolo e tessuto lignificato ([specie per specie a foglia caduca](#))
- ciclo biologico di specie arboree e delle infestanti
- andamento climatico dell'area

Data la grande diversità nell'espressione dei sintomi, l'esame visivo dei sintomi di *X. fastidiosa* è caratterizzato da una bassa specificità.

Quando	Cosa guardare	Immagini
Epoca di ispezione e campionamento Olivo: <u>i prelievi possono effettuarsi per tutto l'arco dell'anno</u>	Bruscatura fogliare	

<p>Polygala myrtifolia:</p> <p><u>i prelievi possono effettuarsi per tutto l'arco dell'anno</u></p> <p>Oleandro:</p> <p><u>i prelievi possono effettuarsi per tutto l'arco dell'anno</u></p> <p>Altre sempreverdi presenti nel verde urbano e nella macchia</p>	<p>Repentino disseccamento di rami e drupe in accrescimento</p> <p>Disseccamenti a carico di rami e/o branche in maniera irregolare</p> <p>Bruscatura fogliare con necrosi marginale, talora circondata da un alone clorotico (giallo) o rosso</p> <p>Disseccamenti irregolari nella pianta</p> <p>Bruscatura fogliare con necrosi marginale, talora circondata da un alone clorotico (giallo) o rosso</p>	   <p><i>Polygala myrtifolia</i></p>  <p><i>Polygala myrtifolia</i></p>  <p>Oleandro</p>
---	--	---

<p>mediterranea:</p> <p>i prelievi possono effettuarsi per tutto l'arco dell'anno</p>	<p>Bruscatura delle foglie</p> <p>Disseccamento non uniforme della chioma</p>	 <p><i>Lavandula angustifolia</i></p>  <p>Rosmarino</p>  <p>Mirto</p>  <p>Cisto</p>
--	--	--

<p>Per specie a foglia caduca es. mandorlo e ciliegio e nelle condizioni presenti in Puglia (LE) il batterio è rilevabile dall'estate inoltrata fino alla caduta delle foglie</p>	<p>Bruscatura fogliare</p>	 <p><i>Acacia saligna</i></p>  <p><i>Spartium junceum</i></p>  <p>Mandorlo</p> 
---	----------------------------	--

Pesco:

dall'estate
inoltrata fino alla
caduta delle
foglie

Chioma compatta, con
permanenza di fiori e
foglie, foglie affastellate ma
non bruscatura



Ciliegio



(Foto: M. Scortichini, CREA-OFA Roma tratta da
<https://gd.eppo.int/taxon/XYLEFA/photos>)

Platano:



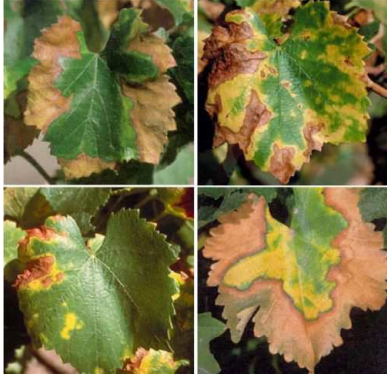

dall'estate
inoltrata fino alla
caduta delle
foglie








(Foto: John Hartman, University of Kentucky, Bugwood.org) -
<https://www.ipmimages.org/index.cfm>

Chioma compatta, con
permanenza di fiori e
foglie, foglie affastellate ma
non bruscatura


Acero:


<p>dall'estate inoltrata fino alla caduta delle foglie</p>	<p>Bruscatura fogliare</p>	  <p>(Foto: John Hartman, University of Kentucky, Bugwood.org e Brian Eshenaur, Cornell Universtiy IPM, Bugwood.org) - https://www.ipmimages.org/index.cfm</p>
<p>Vite: dall'estate inoltrata fino alla caduta delle foglie</p>	<p>Disseccamento fogliare con aloni necrotici</p> <p>Maturazione irregolare dei tessuti</p>	  <p>Foto: Regents, Univ. California, USA https://www.ilvo.vlaanderen.be/)</p>
<p>Agrumi: dall'estate inoltrata fino alla</p>	<p>Bruscatura fogliare</p>	

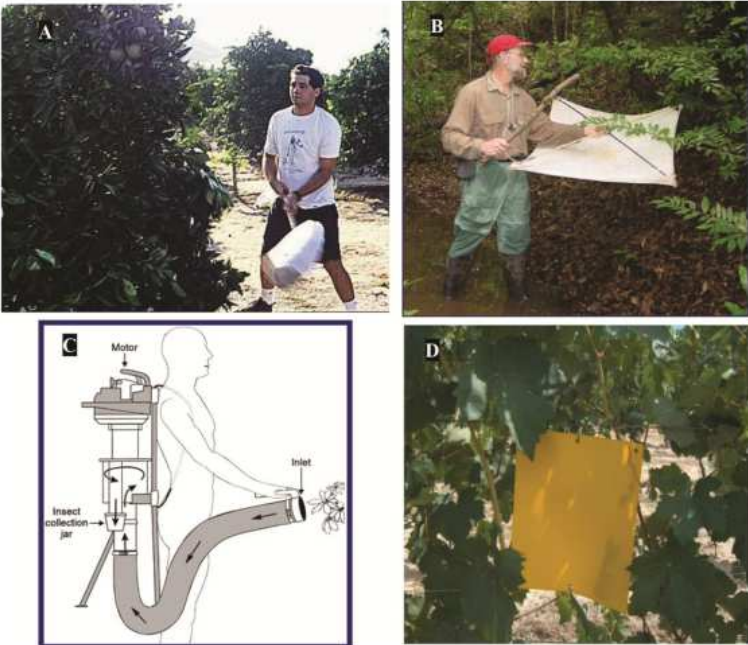
<p>caduta delle foglie</p> <p>Caffè: dall'estate inoltrata fino alla caduta delle foglie</p>	<p>Maturazione irregolare ed anticipata dei frutti (piccole dimensioni)</p> <p>Bruscatura fogliare a partire dai margini</p>	  <p>(Foto: M. Scortichini, CREA-OFA Roma e Alexander Purcell, Bugwood.org - https://gd.eppo.int/taxon/XYLEFA/photos) University of California, Bugwood.org - https://www.ipmimages.org/index.cfm)</p>
<p>Erba medica: dall'estate inoltrata fino alla caduta delle foglie</p>	<p>Margini fogliari più o meno arricciati (curling)</p> <p>Crescita stentata con giovani foglie più piccole e più scure rispetto alle sane</p>	  <p>Foto Donato Boscia CNR, IPSP Bari) e Maria Bergsma-Vlami, NPPO (NL). Foto tratte da https://gd.eppo.int/taxon/XYLEFA/photos)</p>

		 <p>Foto: R.E. Davis and M.J. Davis, APS image data base https://imagedatabase.apsnet.org/search.aspx?publicationId=229&ps=1</p> <p>Tutte le foto in questa sezione, se non diversamente indicato sono fornite da: Donato Boscia, CNR, Istituto Protezione Sostenibile Piante (IPSP), Bari</p>
--	--	---

Campionamento / *Sample taking*

Cosa prelevare	Immagini	Come conservare
<p>Campioni di pianta sintomatici.</p> <p>Il campione dovrebbe includere foglie mature evitando di campionare i giovani germogli in crescita perché in questa fase i batteri potrebbero non essere rilevati (EPPO, 2019a).</p> <p>Per le piante piccole può essere inviata l'intera pianta al laboratorio.</p> <p>Campione specie sempreverdi: 8 rametti di 15-20 cm</p>	<p>Come riportato nel <i>X. Fastidiosa</i> survey card – EFSA, la guida sul campionamento e sulla tipologia di campione di laboratorio da utilizzare per le analisi è riportata nel protocollo EPPO PM7/24 (4) nelle tabelle 1 di pag. 185 e tabella 2 pag. 186 riferite rispettivamente al campionamento di campioni multipli e singoli.</p> <p>Per ragioni di spazio si ritiene utile visualizzare le tabelle alla fonte</p>  <p>(Tratto da: https://www.ponteproject.eu/wp-content/uploads/2017/05/XYLELLA-WORKSHOP-MANUAL-DETECTION-ENG-web.pdf)</p>	<p>Assicurarsi che nei campioni vegetali non siano presenti insetti vettori: scuotere energicamente il campione e/o effettuare lavaggio al fine di assicurarsi di non movimentare il vettore (aspetto fondamentale in aree infette)</p> <p>Usare sacchetti di dimensioni adeguate al fine di non schiacciare le piante campionate.</p> <p>Tenere i campioni lontano da fonti di</p>

<p>alternativamente foglie mature da rami lignificati (10-25 foglie). In piante con sintomi evidenti prelevare rami vitali adiacenti alle parti sintomatiche; in piante con sintomi lievi o assenti prelevare gli 8 rametti ai quattro punti cardinali della chioma.</p> <p>Campioni foglie caduche: come sopra in presenza di foglie; nel periodo invernale porzioni di rametti lignificati.</p> <p>Piante erbacee a ciclo annuale: porzioni di fusto/caule basali o intera pianta comprese le radici</p> <p>Arbustive: rametti 15-20 cm con foglie o foglie da rami lignificati</p>	 <p>(Tratto da: https://www.ponteproject.eu/wp-content/uploads/2017/05/XYLELLA-WORKSHOP-MANUAL-DETECTION-ENG-web.pdf)</p>	<p>calore.</p> <p>In attesa della consegna al laboratorio conservare in frigorifero a 4°C avendo cura di consegnarlo entro 48, massimo 72 ore.</p>
<p>Campioni di pianta asintomatici</p> <p>Il campione deve essere rappresentativo dell'intera chioma. Recenti dati sperimentali</p>	<p>Una guida sul campionamento e sulla tipologia di campione di laboratorio da utilizzare per le analisi è riportata nel protocollo EPPO PM7/24 (4) nelle tabelle 1 di pag. 185 e tabella 2 pag. 186 riferite rispettivamente al campionamento di campioni multipli e singoli.</p> <p>Per ragioni di spazio si ritiene utile visualizzare le tabelle alla</p>	<p>vedi sopra</p>

<p>hanno mostrato che il rilevamento è più affidabile quando si campiona la parte medio-alta della chioma. Per testare singole piante asintomatiche, raccogliere da 4 a 10 rametti (a seconda dell'ospite e delle dimensioni della pianta) ai quattro punti cardinali della chioma.</p>	<p>fonte: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/epp.12575</p>	
<p>Insetti vettori</p> <p>Obiettivi adatti per il monitoraggio sono gli insetti adulti, al contrario delle ninfe. I vettori adulti dovrebbero essere raccolti mediante: (A) retino entomologico (sweeping net); (B) tecnica del frapping che consiste nel collocare un telo (beat tray o beat sheet) sotto la pianta, scuoterla energicamente e raccogliere gli insetti che vi cadono; (C) aspiratori a motore. (D) le trappole adesive gialle non sono efficaci quanto il campionamento attivo, ma gli insetti possono essere</p>	 <p>Figure 1. (A) sweeping net; (B) beat tray; (C, D) vac aspirator; (D) yellow sticky trap.</p> <p>(Tratto da: https://www.ponteproject.eu/wp-content/uploads/2017/03/XYLELLA-WORKSHOP-MANUAL-INSECTS-web.pdf)</p>	<p>Se gli insetti non possono essere analizzati immediatamente dopo la raccolta, devono essere conservati in etanolo al 95-99% per lunghi periodi o a - 20°C o - 80°C per brevi periodi. Le trappole adesive possono anche essere conservate a - 20°C. Alternativamente possono essere mantenute a 4°C per brevi periodi avendo cura di staccare gli insetti e trasferirli come sopra riportato per la conservazione.</p>

<p>intrappolati accidentalmente e i campioni raccolti possono essere utilizzati per le analisi. I vettori possono essere rimossi dalle trappole usando piccole pinzette e un solvente adatto. Dopo la rimozione gli insetti devono essere sciacquati con etanolo (95-99%). Il campionamento per gli insetti dovrebbe essere preferibilmente effettuato dalla tarda primavera fino all'inizio dell'autunno per massimizzare la probabilità di rilevamento del batterio.</p>		
--	--	--

PARTE B – INFORMAZIONI SULLO *STATUS* del PEST

Inquadramento normativo

EUROPEA

- Regolamento di esecuzione (UE) 2020/1201 della Commissione del 14 agosto 2020 relativo alle misure per prevenire l'introduzione e la diffusione nell'Unione della *Xylella fastidiosa* (Wells et al.) che abroga la Decisione di esecuzione (UE) 2015/789.
- Decisione 789/2015 Relativa alle misure per impedire l'introduzione e la diffusione nell'Unione della *Xylella fastidiosa* (Wells et al.)
- Regolamento (EU) 2016/2031 Annex 2 (parte A)

- Regolamento di esecuzione (UE) 2019/2072
- Union Quarantine pest (Anne x II B) Reg 2019/2072

NAZIONALE

- DM 06.06.2019 PFA Xylella
- Decreto del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali 1785 del 14/02/2019 Piano d'intervento per il rilancio del settore agricolo e agroalimentare nei territori agricoli colpiti da *Xylella*
- Decisione di Esecuzione della Commissione del 9 ottobre 2018 n. 1511 Modifica della decisione di esecuzione (UE) 2015/789 relativa alle misure per impedire l'introduzione e la diffusione nell'Unione della *Xylella fastidiosa* (Wells *et al.*) e precedenti (vedi sopra sez. Normativa monitoraggio)
- Decreto del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali e del Turismo del 5 ottobre 2018. Modifica del decreto ministeriale 13 febbraio 2018, concernente le misure di emergenza per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di *Xylella fastidiosa* (Wells *et al.*) nel territorio della Repubblica italiana. (G.U. n. 271 del 21-11-2018)
- Decreto del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali del 13 febbraio 2018. Misure di emergenza per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di *Xylella fastidiosa* (Wells *et al.*) nel territorio della Repubblica italiana. (G.U. n. 80 del 06-04-2018) e precedenti.
- Decreto del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali del 18 febbraio 2016. Definizione delle aree indenni dall'organismo nocivo *Xylella fastidiosa* (Wells *et al.*) nel territorio della Repubblica italiana. (G.U. n. 54 del 05-03-2016)
- Decreto legislativo 214/2005 ALLEGATO II Parte A Sezione 1

Inquadramento EPPO:

- EPPO A2 List

Origini:

I primi sintomi della malattia a carico della vite risalgono al 1880. Intorno ai primi del '900 si segnalano le malattie dell'erba medica (alfalfa dwarf disease) e del pesco (phony peach), mentre la malattia di Pierce della vite si diffonde negli USA. Nel 1970 viene individuato un batterio (*Xylella fastidiosa*) come agente delle malattie sopra citate. Successivamente viene segnalata in Brasile in associazione alla necrosi variegata degli agrumi.

Mappa EPPO

<https://gd.eppo.int/taxon/XYLEFA/distribution>

Distribuzione nel mondo

America: Argentina, Brasile, Canada, Costa Rica, Messico, Paraguay, Puerto Rico, USA, Venezuela

Asia: Iran, Israele, Taiwan

Europa: Francia (transiente, ma presente in Corsica), Italia, Spagna (transiente, ma presente nelle Isole Baleari), Portogallo (transiente)

Presenza e/o segnalazioni in Italia:

In Italia il batterio è stato rilevato:

- nel 2013 in Puglia principalmente su olivo, ma anche in altre specie vegetali (oleandro, mandorlo, ciliegio, *Polygala myrtifolia*, *Ramnus alaternus*, *Westringia fruticosa*, mimosa, ginestra, cisto, rosmarino, lavanda, mirto etc.);
- nel 2018 In Toscana su *Calicotome spinosa*, *Cercis siliquastrum*, *Cistus monspeliensis*, *Cistus salviifolius*, *Cytisus scoparius*, *Elaeagnus angustifolia*, *Ficus carica*, *Helichrysum*, *Lavandula angustifolia*, *Polygala myrtifolia*, *Prunus dulcis*, *Rhamnus alaternus*, *Rosmarinus officinalis*, *Spartium junceum*;
- 2019 nel Lazio (*Vinca* sp.).

Rischio di introduzione:

Indagini EUROPHYT – Scambi commerciali con Paesi Terzi

Scambi commerciali con Paesi terzi in cui il patogeno è presente o transiente.
Negli scambi commerciali con i paesi UE verificare l'assenza del patogeno.

INTERCETTAZIONI EUROPHYT

Negli ultimi 5 anni (2016-2020) le intercettazioni sono state le seguenti:

Country of Export	Year	Object	Plant Species (No. of interceptions)

USA	2018	Intended for planting: not yet planted	<i>Rubus idaeus</i> (2)
USA	2018	Intended for planting: not yet planted	<i>Rubus fruticosus</i> (1)
USA	2017	Intended for planting: not yet planted	<i>Juglans</i> (1)
Mexico	2016	Intended for planting: cuttings	<i>Pelargonium x hortorum</i> (1)

PARTE C – DIAGNOSI

Normativa di riferimento:

EUROPEA:

Commission database of validated tests for the identification of the *Xylella fastidiosa* and its subspecies as referred to in article 3(2) of commission implementing decision (UE) 2015/789

https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/ph_biosec_legis_emergency_comm-db-xylella-validated-tests.pdf

NAZIONALE:

DM 13-02-2018 Piano nazionale di emergenza per la gestione di *Xylella fastidiosa* in Italia Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana Serie generale - n. 80 (6/4/2018)

Protocolli standard di riferimento:

PM7 EPPO:

PM 7/24 (4) *Xylella fastidiosa* <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/epp.12575>

IPPC:

ISPM 27 Diagnostic protocols for regulated pests DP 25: *Xylella fastidiosa*

Matrice

Materiali vegetali sintomatici e asintomatici
Insetti vettori

TIPOLOGIA DI CAMPIONE

Come riportato nel *X. fastidiosa* survey card – EFSA, la guida sul campionamento e sulla tipologia di campione di laboratorio da utilizzare per le analisi è riportata nel protocollo EPPO PM7/24 (4), sezione 3.3. nelle tabelle 1 di pag. 185 e tabella 2 pag. 186 riferite rispettivamente al campionamento di campioni multipli e singoli.

Per ragioni di spazio si ritiene utile visualizzare le tabelle alla fonte.

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/epp.12575>

Tipologie diagnostiche previste all'interno del monitoraggio cofinanziato

(riportato in IO 05)

- (IV) Morphological identification (per vettori)
- (VII) Plating su terreno non selettivo
- (VIII) Selective culture media
- (IX) IF test
- (XII) DTBIA - serological test 1
- (XIV) ELISA
- (XV) PCR
- (XVIII) LAMP=Molecular testing 3
- (XIX) PCR/RT-PCR + Sequencing

- (XX) Real Time – PCR

Viene di seguito indicata la (1) procedura di diagnosi di *X. fastidiosa* secondo il PM 7/24 (4) *Xylella fastidiosa* (EPPO) e a seguire (2) i test diagnostici per l'identificazione di *X. fastidiosa* e la sua sottospecie secondo l'articolo 3 (2) della Decisione (EU) 2015/789.

(1) PM 7/24 (4) XYLELLA FASTIDIOSA (EPPO)

Il PM 7/24 (4) *Xylella fastidiosa* (EPPO) prevede il processamento di campioni vegetali e di insetti vettori secondo due diversi diagrammi di flusso per il rilevamento e l'identificazione del patogeno. In particolare, una volta estratto il DNA dai campioni vegetali /insetti vettori viene prevista una prima fase di applicazione di saggi di screening preliminari.

1.1. Estrazione del DNA

L'estrazione del DNA da **materiale vegetale** può essere effettuata a partire dal campione di laboratorio secondo le procedure riportate nel PM7/24 (4) Appendice 3 sezione 1

L'estrazione del DNA da **insetti vettori** può essere effettuata a partire dal campione di laboratorio secondo le procedure riportate nel PM7/24 (4) Appendice 3 sezione 1

1.2. Saggi di screening preliminare (Cod. IO 05 IX, XII, XIV, XV, XVIII, XX):

- Saggi sierologici: saggio IF (Cod. IO 05 IX), ELISA (Cod. IO 05 XIV), DTBIA (Cod. IO 05 XII)
- Saggi molecolari*: end-point PCR (Cod. IO 05 XV), real-time PCR (Cod. IO 05 XX), LAMP (Cod. IO 05 XVIII) (vedi di seguito).

L'analisi di campioni vegetali sintomatici può essere effettuata utilizzando uno o più metodi fra quelli indicati. Se vengono utilizzati due metodi, questi devono essere basati su principi biologici differenti o, per i test molecolari, su target genomici diversi. In particolare, in caso di analisi di materiale asintomatico in un'area indenne deve essere utilizzato uno (o più) saggi molecolari mentre nel caso di analisi di campioni prelevati da piante sintomatiche in un'area infetta o in zona tampone può essere applicato un saggio sierologico (es. ELISA). L'isolamento non è inserito fra i test di screening per la oggettiva difficoltà ad isolare il batterio. I campioni devono essere considerati come campioni con "presenza di *X. fastidiosa*" quando sono positivi almeno due saggi basati su principi biologici diversi (es. molecolare e sierologico) o con target molecolari differenti (metodi basati su diverse regioni del genoma). Per le aree in cui è presente il batterio o nelle zone tampone è sufficiente un test positivo per considerare il campione con "presenza di *X. fastidiosa*".

*Fra i saggi molecolari sono previsti i seguenti:

- End-point PCR: Minsavage *et al.* (1994) (Cod. IO 05 XV);
- Real-time PCR: simplex o duplex Harper *et al.* (2010; erratum 2013); Francis *et al.*, (2006) versioni SYBR Green e TaqMan; Ouyang *et al.* (2013); Li *et al.* (20013); Triplex real-time PCR (Bonants *et al.*, 2019) (Cod. IO 05 XX).
- LAMP Harper *et al.* (2010; erratum 2013) modificato secondo Yaseen *et al.* (2015) (Cod. IO 05 XVIII).

Qualora il risultato dell'analisi di screening preliminare produca risultati inconsistenti è raccomandata la ripetizione dell'analisi e/o un nuovo campionamento.

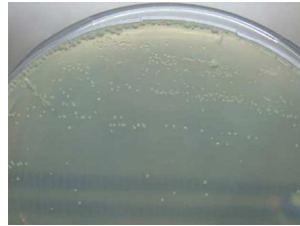
Qualora due saggi di screening preliminari, basati su principi biologici diversi o su target genomici differenti, risultino positivi, il campione viene determinato positivo ovvero con "presenza di *Xylella fastidiosa*" ed è necessario procedere con l'isolamento sui seguenti mezzi di coltura agarizzati riportati nel PM 7/24 (4), Appendice 12, sez. B pag. 215: (Cod. IO 05 VII, VIII)

- PD2 (Davis *et al.*, 1980)
- BCYE modificato
- PWG modificato

Le colonie hanno lunghi tempi di crescita (1-3 settimane) a 28°C e presentano un diametro variabile tra 1-1,5 mm e morfologia variabile. In particolare, su tutti i mezzi appaiono circolari e lievemente convesse; in PD2 e BYCE appaiono opache e biancastre. In BYCE le colonie contrastano con la colorazione scura del terreno agarizzato.



Xylella fastidiosa subsp. *pauca*
(CoDiRO) su BYCE



X. fastidiosa subsp. *fastidiosa*
su PD2



X. fastidiosa subsp.
fastidiosa su PWG

(Foto: BYCE, M. Saponari (IPSP CNR Bari); PWG Anses (tratte da PM7/24 (4), 2019))

1.3. Saggi d'identificazione

Questa fase prevede l'identificazione delle colonie individuate in fase d'isolamento attraverso l'applicazione di saggi d'identificazione. Possono essere utilizzati i seguenti saggi fra quelli sopra descritti per le analisi di screening preliminare:

- Saggi sierologici (Cod. IO 05 IX, XII, XIV): saggio IF, ELISA, DTBIA
- Saggi molecolari* (Cod. IO 05 XV, XX): end-point PCR, real-time PCR.

Una volta confermata l'identità delle colonie è necessario procedere con l'assegnazione della sottospecie e del Sequence Type. L'assegnazione della sottospecie può essere effettuata direttamente da materiale vegetale o da insetti vettori nel caso l'isolamento non vada a buon fine. In questo caso la caratterizzazione può essere resa difficoltosa, rispetto alla procedura applicata su coltura pura, a causa della minore concentrazione del batterio nelle suddette matrici (pianta e vettore) e della presenza di inibitori che ostacolano le amplificazioni.

1.4. Assegnazione sottospecie e Sequence Type (ST)

L'assegnazione della sottospecie e del ST è particolarmente suggerita nel caso di un nuovo ritrovamento del batterio (in aree precedentemente indenni) o in associazione a nuovi ospiti vegetali. Allo scopo possono essere utilizzati i seguenti metodi:

- End-point PCR (Pooler & Hartung, 1995): identificazione della sola sottospecie *pauca* (Cod. IO 05 XV).
- Conventional simplex PCR (Hernandez-Martinez *et al.*, 2006): identificazione delle sottospecie *multiplex*, *sandyi*, *fastidiosa* (scarsa l'esperienza a partire da DNA di insetti vettori) (Cod. IO 05 XV).
- Conventional multiplex PCR (Hernandez-Martinez *et al.*, 2006): identificazione delle sottospecie *multiplex*, *sandyi*, *fastidiosa* (Cod. IO 05 XV).
- Multilocus sequence typing (MLST) (Yuan *et al.*, 2010): l'identificazione della sottospecie prevede l'amplificazione e il sequenziamento di due geni: *cysG* e *malF* oppure *rpoD* e *malF*; l'identificazione del ST prevede l'amplificazione e il sequenziamento dei seguenti sette geni "housekeeping", *cysG*, *malF*, *gltT*, *holC*, *leuA*, *nuoL*, *petC* (EPP0 Standard PM7/24(4). Permette l'identificazione di tutte le subspecie. (Cod. IO 05 XIX).

(2) ARTICOLO 3(2) DELLA DECISIONE (EU) 2015/789 (IL PRESENTE DOCUMENTO È IN CORSO DI REVISIONE)

(https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/ph_biosec_legis_emergency_comm-db-xylella-validated-tests.pdf)

La commissione Europea elenca i seguenti metodi per l'identificazione di *Xylella fastidiosa* e la subspecie.

2.1 Test per lo screening e l'identificazione della presenza di *Xylella fastidiosa*

2.1.1 in aree demarcate e siti di produzione riferiti all'Art. 9(8) della decisione 2015/789

- PCR (Minsavage *et al.*, 1994) (Cod. IO 05 XV);
- Real time PCR (Francis *et al.*, 2006) (Cod. IO 05 XX);

- Real time PCR (Harper *et al.*, 2010; erratum 2013) (Cod. IO 05 XX);
- Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) (Harper *et al.*, 2010, erratum 2013) (Cod. IO 05 XVIII);
- Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), utilizzando anticorpi policlonali in grado di identificare tutte le sottospecie di *X. fastidiosa*; (Cod. IO 05 XIV)
- Immunofluorescenza (IF), utilizzando anticorpi policlonali in grado di identificare tutte le sottospecie di *X. fastidiosa*; (Cod. IO 05 IX)

2.1.2 In altre aree rispetto alle aree demarcate e in altri siti di produzione rispetto a quelli riferiti all'Art. 9(8) della decisione 2015/789

- Real time PCR (Harper *et al.*, 2010; erratum 2013) (Cod. IO 05 XX);
- Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) (Harper *et al.*, 2010, erratum 2013) (Cod. IO 05 XVIII);

2.2 Test molecolari per l'identificazione delle sottospecie di *Xylella fastidiosa*

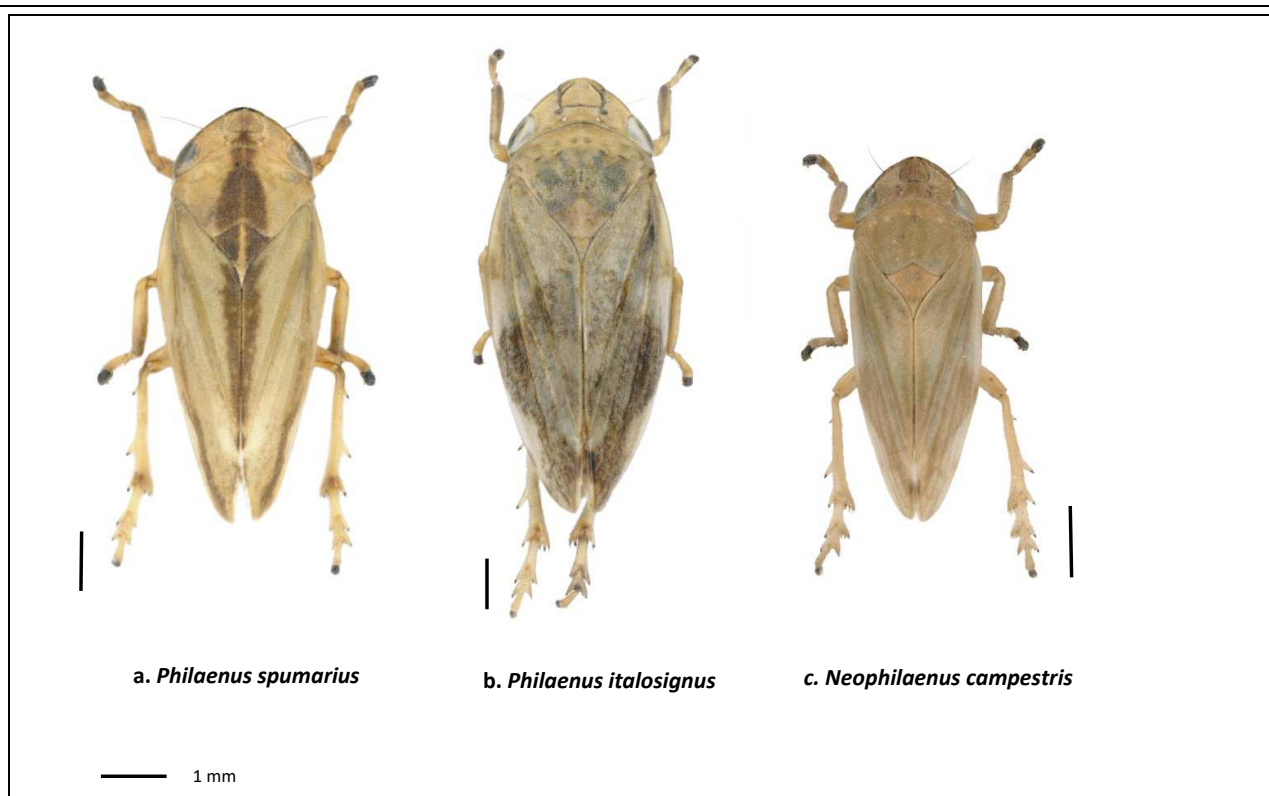
- Multi Locus Sequence Typing (MLST) (Yuan *et al.*, 2010) in grado di determinare tutte le sottospecie (Cod. IO 05 XIX);
- PCR (Hernandez-Martinez *et al.*, 2006): identificazione delle sottospecie *fastidiosa*, *multiplex* e *sandyi* (Cod. IO 05 XV)
- PCR (Pooler & Hartung 1995): identificazione della sottospecie *pauca* (Cod. IO 05 XV).

Identificazione degli insetti vettori di *X. fastidiosa* in Europa (cod. IO 05 IV)

L'identificazione di *Philaenus spumarius*, *P. italosignus* e *Neophilaenus campestris*, le specie di insetti riconosciuti come vettori di *X. fastidiosa* in Europa, si basa sulla morfologia degli individui adulti, considerando sia caratteri che sono visibili esternamente sia caratteri relativi all'apparato genitale maschile che possono essere identificati solamente previa dissezione e osservazione al microscopio. L'identificazione morfologica degli stadi giovanili è difficile e si consiglia in questo caso di ricorrere all'identificazione molecolare

Di seguito sono riportate le caratteristiche morfologiche principali delle tre specie:

- Adulto di *P. spumarius*: i maschi (5.3-6 mm) sono più piccoli delle femmine (5.4-6.9 mm). La forma del corpo è più arrotondata rispetto alle specie del genere *Neophilaenus*. Il colore è molto variabile, dal giallo chiaro al nero, e non può quindi essere considerato un carattere distintivo della specie.
- Adulto di *P. italosignus*: può essere distinto con certezza da *P. spumarius* solamente attraverso l'osservazione al microscopio dell'apparato genitale maschile. Il maschio ha dimensioni di 6.4-7.2 mm, la femmina ha dimensioni 7-8.1 mm.
- Adulto di *N. campestris*: il maschio ha dimensioni di 5-6.3 mm, la femmina ha dimensioni di 5.4-5.7 mm. La forma del corpo è più snella rispetto alle specie del genere *Philaenus*. Il colore varia dal grigio-giallo al grigio-marrone, spesso con venature rossastre e con una striscia longitudinale scura che si estende dal vertice verso lo scutello. Il margine esterno delle ali anteriori presenta due macchie puntiformi chiare.



L'identificazione degli insetti vettori su base molecolare può essere effettuata su tutti gli stadi di sviluppo. L'identificazione molecolare (Cod. IO 05 XIX) avviene amplificando (mediante PCR convenzionale) regioni note del gene Cytochrome c oxidase I (COX1) con conseguente sequenziamento Sanger delle regioni di DNA amplificate e confronto con le sequenze di riferimento di ciascuna specie depositate nei database GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) o BOLDSYSTEMS (<http://www.boldsystems.org/>). Un protocollo di DNA barcoding basato sul gene COX1 è descritto in PM 7/129 (DNA barcoding as an identification tool for a number of regulated pests; EPPO, 2016).

Il PM7 EPPO relativo all'identificazione morfologica e molecolare di *P. spumarius*, *P. italosignus* e *N. campestris* è in preparazione.

Riferimenti Bibliografici

Almeida RPP, Blua MJ, Lopes JR and Purcell AH, 2005. Vector transmission of *Xylella fastidiosa*: applying fundamental knowledge to generate disease management strategies. *Annals of the Entomological Society of America*, 98, 775–786.

Bonants P, Griekspoor Y, Houwers I, Krijger M, van der Zouwen P, van der Lee TAJ & van der Wolf J (2019) *Plant Disease* 103, 645–655. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-18-1433-RE>.

Chatterjee S, Almeida RP and Lindow S, 2008. Living in two worlds: the plant and insect lifestyles of *Xylella fastidiosa*. *Annual Review of Phytopathology*, 46, 243–271.

Coletta-Filho HD, Francisco CS, Lopes JRS, De Oliveira AF & Da Silva LFO (2016) First report of olive leaf scorch in Brazil, associated with *Xylella fastidiosa* subsp. pauca. *Phytopathologia Mediterranea*. https://doi.org/10.14601/phytopathol_mediterr-17259

Davis MJ, Purcell AH & Thomson SV (1980) Isolation medium for the Pierce's disease bacterium. *Phytopathology* 70, 425–429.

Denancé, N., Briand, M., Gaborieau, R., Gaillard, S., and Jacques, M.A. (2019) Identification of genetic relationships and subspecies signatures in *Xylella fastidiosa*. *BMC Genomics* 20: 239.

Donadio LC & Moreira CS (1998) Citrus variegated chlorosis. Bebedouro, SP, Brazil, FUNDECITRUS/FAPESP 166 p.

EFSA (European Food Safety Authority), 2015. Scientific Opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory, with the identification and evaluation of risk reduction options. *EFSA Journal*

2015;13(1):3989, 262 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.3989>

EFSA (European Food Safety Authority), 2018. Scientific report on the update of the *Xylella* spp. Host plant database. EFSA Journal 2018;16(9): 5408, 87 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5408>

EFSA (European Food Safety Authority), 2019. Pest survey card on *Xylella fastidiosa*. EFSA Journal 2019; 53pp. doi:10.2903/sp.efsa.2019.EN-1667

EFSA PLH Panel (EFSA Panel on Plant Health), 2019a. Update of the Scientific Opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory. EFSA Journal 2019;17(5):5665, 200 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5665>

EFSA (European Food Safety Authority), 2020. Update of the *Xylella* spp. host plant database – systematic literature search up to 30 June 2019. EFSA Journal 2020;18(4): 6114, 61 pp. <http://doi:10.2903/j.efsa.2020.6114>

EPPO 2019. PM 7/24 (4) *Xylella fastidiosa*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin (2019) 49 (2), 175–227.

Francis M, Lin H, Cabrera-La Rosa J, Doddapaneni H & Civerolo EL (2006) Genome-based PCR primers for specific and sensitive detection and quantification of *Xylella fastidiosa*. European Journal of Plant Pathology 115, 203–213.

Freitag JH, 1951. Host range of the Pierce's disease virus of grapes as determined by insect transmission. Phytopathology, 41, 10.

Haelterman RM, Tolocka PA, Roca ME, Guzman FA, Fernandez FD & Otero ML (2015) First presumptive diagnosis of *Xylella fastidiosa* causing olive scorch in Argentina. Journal of Plant Pathology 97, 393

Harper SJ, Ward LI & Clover GRG (2010) Development of LAMP and real-time PCR methods for the rapid detection of *Xylella fastidiosa* for quarantine and field applications. Phytopathology 100, 1282–1288.

Hernandez-Martinez R, Costa HS, Dumenyo CK & Cooksey DA (2006) Differentiation of strains of *Xylella fastidiosa* infecting grape, almonds, and oleander using a multiprimer PCR assay. Plant Disease 90, 1382–1388.

Hill BL & Purcell AH (1995) Acquisition and retention of *Xylella fastidiosa* by an efficient vector, *Graphocephala atropunctata*. Phytopathology 85, 209–212.

Krugner R, Sisterson MS, Chen JC, Stenger DC & Johnson MW (2014) Evaluation of olive as a host of *Xylella fastidiosa* and associated sharpshooter vectors. Plant Disease 98, 1186–1193.

Li W, Teixeira DC, Hartung JS, Huang Q, Duan Y, Zhou L *et al.* (2013) Development and systematic validation of qPCR assays for rapid and reliable differentiation of *Xylella fastidiosa* strains causing citrus variegated chlorosis. Journal of Microbiological Methods 92, 79–89.

Linee Guida della Commissione Europea (Guidelines for the survey of *Xylella fastidiosa* Wells *et al.* in the Union Territory -2015)

https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/ph_biosec_legis_guidelines_xylella-survey.pdf

Landa B (2017) Emergence of *Xylella fastidiosa* in Spain: current situation. Presentation made at the European Conference on *Xylella* 2017, <https://www.efsa.europa.eu/en/events/event/171113>

Marcelletti, S. and Scortichini, M. (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 198: 803–812.

Minsavage GV, Thompson CM, Hopkins DL, Leite RMVBC & Stall RE (1994) Development of a polymerase chain reaction protocol for detection of *Xylella fastidiosa* in plant tissue. Phytopathology 84, 45, 6–461.

Nunney, L., Elfekih, S., and Stouthamer, R. (2012) The importance of multilocus sequence typing: Cautionary tales from the bacterium *Xylella fastidiosa*. Phytopathology 102: 456–462.

Ouyang P, Arif M, Fletcher J, Melcher U & Ochoa Corona FM (2013) Enhanced reliability and accuracy for field deployable bioforensic detection and discrimination of *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*, causal agent of citrus variegated chlorosis using Razor Ex technology and TaqMan Quantitative PCR. PLoS ONE 8, e81647.

Pooler MR & Hartung JS (1995) Specific PCR detection and identification of *Xylella fastidiosa* strains causing citrus variegated chlorosis. Current Microbiology 31, 377–381.

Purcell AH and Saunders SR, 1999. Fate of Pierce's disease strains of *Xylella fastidiosa* in common riparian plants in California. Plant Disease, 83(9), 825–830.

Saponari M, Boscia D, Nigro F & Martelli GP (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

Schaad, N.W., Opgenorth, D., and Gauth, P. (2002) Real-time polymerase chain reaction for one-hour on-site diagnosis of Pierce's disease of grape in early season asymptomatic vines. *Phytopathology* 92: 721–728.

Wells JM, Raju BC, Nyland G & Lowe SK (1981) Medium for isolation and growth of bacteria associated with Plum leaf scald and Phony peach diseases. *Applied Environmental Microbiology* 42, 357–363.

Yaseen T, Drago S, Valentini F, Elbeaino T, Stampone G, Digiario M *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.

Yuan, X., Morano, L., Bromley, R., Spring-Pearson, S., Stouthamer, R., and Nunney, L. (2010) Multilocus Sequence Typing of *Xylella fastidiosa* Causing Pierce's Disease and Oleander Leaf Scorch in the United States . *Phytopathology* 100: 601–611.

Autori: Dott.ssa Stefania Loreti, Dott.ssa Sabrina Bertin– CREA-DC; GdL Monitoraggio
Cofinanziato - UE