



PROCEDURE DI INDAGINE PER:

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

Malattia dei mille cancri/*Thousand cankers disease (TCD)*

2 - Nome scientifico/Scientific name

Agente eziologico: *Geosmithia morbida* (M. Kolarík, E. Freeland, C. Utley & N. Tisserat, 2011)

Vettore: *Pityophthorus juglandis* Blackman, 1928

Sinonimi: nessuno

3 – EPPO Code: GEOHMO, PITOJU

4 - Posizione tassonomica/Taxonomy

FUNGO

- Phylum: *Ascomycota*
- Classe: *Eurotiomycetes*
- Ordine: *Hypocreales*
- Famiglia: *Bionectriaceae*
- Genere: *Geosmithia*
- Specie: *Geosmithia morbida*

INSETTO

- Phylum: *Arthropoda*
- Ordine: *Coleoptera*
- Famiglia: *Curculionidae*
- Sottofamiglia: *Scolytinae*
- Genere: *Pityophthorus*
- Specie: *Pityophthorus juglandis*

5 – Aspetti epidemiologici dell'organismo/Epidemiology of the pest

TCD è una malattia complessa causata dal fungo ascomicete *G morbida* Kolarík e dal suo vettore *P. juglandis*.

Dal punto di vista epidemiologico si può affermare che il fungo *G. morbida* non infetta attivamente le piante di *Juglans* ma viene inoculato nei loro tessuti dal vettore *P. juglandis* nel corso dello scavo dei sistemi di gallerie riproduttive. In primavera gli adulti dello scoltide (lunghe 1,5-2 mm) emergono da piante infette, contaminati dai propaguli del fungo e nei loro spostamenti alla ricerca di un ospite idoneo, possono portarsi su rami e rametti di piante sane, nella cui corteccia scavano le loro gallerie, ovidepongono e infettano i tessuti vivi della pianta rilasciando i propaguli di *G. morbida*. Le larve proseguono l'attività di scavo, contribuendo così alla trasmissione e diffusione del fungo nei tessuti della pianta. I primi studi condotti nel nord Italia sulla biologia di *P. juglandis* hanno accertato lo svolgimento di 2 generazioni annuali.

Il fungo *G. morbida* invade i tessuti vegetali provocando veri e propri cancri che, di solito, non si approfondiscono oltre il cambio. Sulla superficie della corteccia si osservano solo i minuscoli fori di penetrazione dello scolitide, di diametro inferiore al 1 mm. Asportando gli strati più esterni della corteccia dei rametti si osservano gli imbrunimenti provocati dall'invasione fungina. I fori e i relativi cancri possono essere molto numerosi, fino a circondare totalmente il ramo e provocarne il disseccamento.

Il trasporto degli agenti causali del TCD **a lunghe distanze avviene tramite l'uomo** che movimentata legname, parti di legno, residui e segature, nonché piante e semenzali infetti, superando anche barriere geografiche intercontinentali. A conferma di ciò è stato visto che il ceppo isolato in USA corrisponde al ceppo isolato da Montecchio & Faccoli, (2014) in Italia, a breve distanza da una segheria che importa tronchi di noce dal nord America.



Adulto di *Pityophthorus juglandis* (Invasive.org)

<https://www.insectimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5482219>

Morfologia di *Pityophthorus juglandis*:

Femmina. - Lunghezza 1,5-1,9 mm, 2,8-3,1 volte più lunga che larga; colore bruno. **Fronte** con pubescenza abbondante e piuttosto lunga soprattutto ai margini. **Pronoto** 1.10-1.16 volte più lungo che largo; con margini laterali quasi dritti e paralleli sulla metà basale, piuttosto largamente arrotondati nella parte anteriore; margine anteriore armato di circa 18 dentellature; porzione anteriore munita di 4-6 file concentriche di asperità. Area posteriore liscia, brillante, con punteggiatura distinta e piuttosto densa. Setole del pronoto minute sulla parte superiore, più lunghe e disposte in file lungo le asperità nella porzione anteriore. **Elitre** 1,8-1,9 volte più lunghe che larghe e 1,7 volte più lunghe del pronoto; margini laterali dritti e paralleli nei 3/4 basali, piuttosto largamente arrotondati posteriormente; punteggiatura distinta, disposta in file. Setole delle strie molto corte, presenti fino alla base delle elitre; setole delle interstrie in gran parte confinate a livello della declività.

Maschio. - Simile alla femmina tranne per la fronte molto larga, fortemente concava e per una pubescenza meno abbondante.

Sintomi:

Sintomi aspecifici, caratterizzati da gradual ingiallimenti e disseccamenti della chioma, che possono manifestarsi 3-5 anni dopo il primo attacco dell'insetto. In caso di piante suscettibili il deperimento è lento e la morte può avvenire dopo diversi anni dalla comparsa dei primi sintomi.

Sintomi specifici sono da ricercare su branche giovani che risultano quelle più tipicamente attaccate dallo Scolitide. I fori di penetrazione e di emersione del coleottero sono molto piccoli, di diametro inferiore a 1mm. Una volta che *Pityophthorus juglandis* ha rilasciato all'interno delle gallerie subcorticali il micelio di *G. morbida*, comincia la lenta colonizzazione del floema e con l'evoluzione della malattia si iniziano ad osservare dei cancretti caratterizzati dall'imbrunimento dei tessuti a partire dai fori di penetrazione, estesi da pochi mm fino a 10-20 cm. Talvolta i cancretti si uniscono tra loro in senso longitudinale per effetto del comportamento dell'insetto che produce fori molto ravvicinati (da cui "malattia dei mille cancri").

In uno stadio più avanzato della malattia, i cancri si possono sviluppare anche sul fusto portando a morte la pianta dopo 3-5 anni dalla comparsa delle prime manifestazioni della malattia.

I sintomi osservabili da una certa distanza sono disseccamenti di rami e rametti che iniziano dalle parti più alte e periferiche della chioma. Talora restano foglie secche a “bandiera” attaccate sui rami. Il deperimento procede sino al disseccamento totale della chioma e della pianta.

Anche se prevista, la verifica della presenza di *P. juglandis* attraverso l’attività di monitoraggio tuttavia non permette di verificare la presenza di *G. morbida*. L’accertamento del fungo può essere confermato a seguito di successive analisi di laboratorio.

6 - Piante ospiti/Hosts

- *Juglandis ailantifolia*, *J. californica*, *J. cinerea*, *J.hindsii*, *J. major*, *J. mandshurica*, *J. microcarpa*, *J. mollis*, *J. nigra*, *J. regia*, *J. hindsii* X *J. regia*, *J. nigra* X *J. hindsii*, *J. cinerea* X *J. ailantifolia*, *J. nigra* X *J. regia*,
- *Pterocarya fraxinifolia*, *P. rhoifolia* e *P. stenoptera*;
- *Pterocarya* spp

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

- Impianti di noceti; vivai e giardini con presenza di *Juglandaceae*;
- Porti e siti di stoccaggio di legname di importazione;
- Segherie con lavorazione di legno importato.

PARTE A – MONITORAGGIO/SURVEY

Normativa di riferimento su modalità di monitoraggio:

EUROPEA:

NAZIONALE:

Standard di riferimento:

PM EPPO:

- *Pest risk analysis for Thousand cankers disease (G. morbida and P. juglandis)*. EPPO, (2015) - www.eppo.int/QUARANTINE/Pest_Risk_Analysis/PRA_intro.htm

EFSA card non disponibile

OTHER:

Misure di monitoraggio:

- ✓ Ispezione visiva – *Visual Inspection*
- ✓ Trapping degli insetti vettori - *Trapping*
- ✓ Campionamento – *Sample Taking*

Ispezione visiva/*Visual inspection*

Conduzione dell'ispezione:

Le ispezioni visive dovrebbero essere effettuate, durante la stagione vegetativa, su *Juglandaceae* con particolare riguardo a *J. nigra* specie più suscettibile.



https://www.regione.piemonte.it/web/sites/default/files/media/documenti/2018-11/disseccamento_rameale_del_noce_geosmithia_morbida_e_pityophthorus_juglandis.pdf

Quando	Cosa guardare	Immagini
<p>Durante la stagione vegetativa</p>	<p>La presenza di ingiallimenti e/o diradamenti della chioma. La presenza di rami con foglie disseccate con portamento "a bandiera" potrebbe rappresentare un sintomo più specifico.</p>	
<p>Tutto l'anno</p>	<p>Sui rami e/o branche solo a distanza molto ravvicinata si possono osservare i fori di penetrazione e di emersione dell'insetto (Ø circa di 0,5 mm).</p>	<p>https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&q=Diagnosing+Thousand+Cankers+Disease+of+Walnut+Ned+Tisserat+%26+Whitney+Cranshaw+Colorado+State+University</p> 

Campionamento di *Geosmithia morbida*/Sample taking

Cosa prelevare	Immagini	Come conservare
<p>Rametti e/o branche disseccate con presenza di fori di fuoriuscita dello scolitide.</p> <p>Possibilmente devono essere raccolte porzioni di rametti di circa 2 cm di diametro e 10-15 cm di lunghezza, con presenza di fori.</p>	 <p>Photo by Albert Mayfield, USDA Forest Service.</p>	<p>I campioni vegetali (rametti e/o branche) devono essere raccolti singolarmente e, una volta portati in laboratorio, messi in camera umida a temperatura ambiente per 7 gg in modo da favorire la fuoriuscita di micelio e rami conidiofori dai fori prodotti dal coleottero.</p>

Trappolaggio/Trapping

<p>Monitoraggio con trappole multifunnel nere:</p> <p>da posizionare possibilmente entro fine aprile e comunque non oltre la fine di luglio su piante di <i>J. nigra</i> singole o in impianti da legno, punti di entrata (anche in assenza di piante ospiti) o altre zone a rischio.</p> <p>Le trappole permettono una più facile individuazione della presenza di <i>P. juglandis</i> rispetto all'osservazione diretta di piante o parti di esse</p>	
--	--

Link foto: <https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&q=Predisposizione+e+valutazione+di+protocollidi+intercettazione+di+scolitidi+esotici+nel+porto+di+Marghera>

Campionamento di *Pityophthorus juglandis*/Sample taking

Cosa prelevare	Immagini	Come conservare
<p data-bbox="204 613 347 680">Adulti di <i>P. juglandis</i></p> <p data-bbox="188 987 368 1084">Materiale raccolto dalle trappole</p>	 <p data-bbox="416 1111 1182 1167">Foto: Steve Valley, Oregon Department of Agriculture USFS Pest Alert: Thousand Cankers Disease, Feb2013</p>	<p data-bbox="1241 465 1433 797">In provette con alcool al 70% a T ambiente o prelevati vivi e poi uccisi con acetato di etile per identificazione morfologica.</p> <p data-bbox="1241 1039 1433 1167">Raccolto ogni 15-20 giorni, va conservato in alcol</p>

PARTE B – INFORMAZIONI SULLO STATUS del PEST

Inquadramento normativo disponibile:

EUROPEA:

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

NAZIONALE:

Inquadramento EPPO

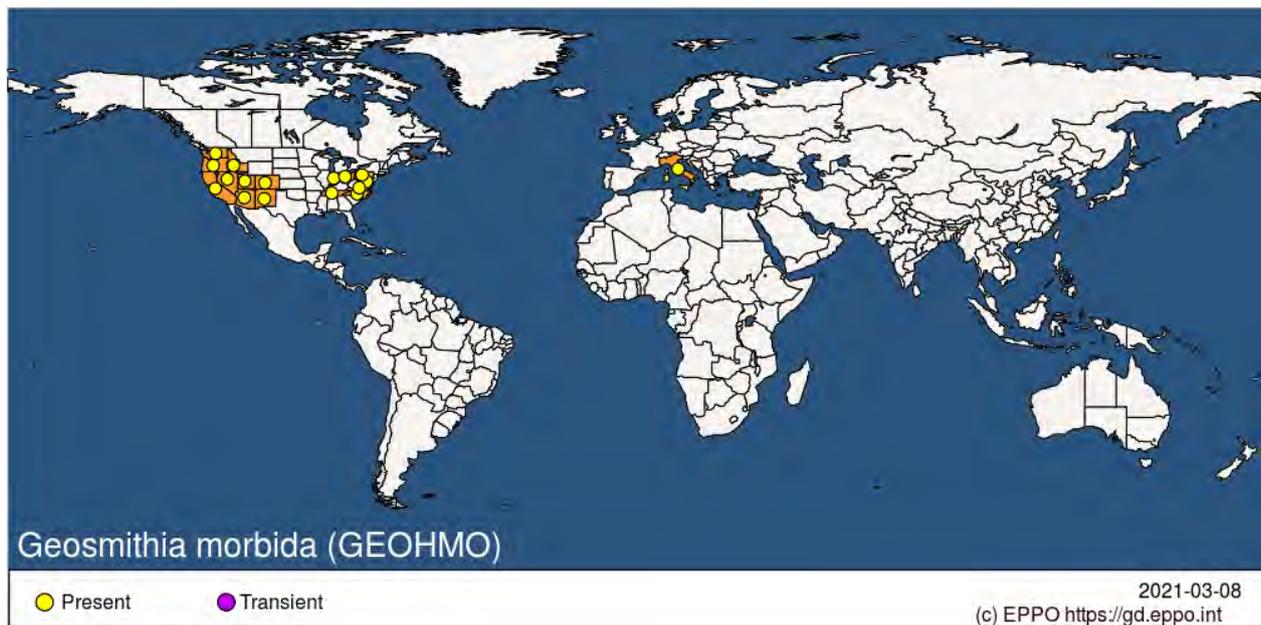
- EPPO A2 List

Origini:

Originaria degli USA, è stata riscontrata per la prima volta in Europa nel 2013, specificamente in Italia (Veneto - prov. di VI) in una piantagione di *J. nigra*.

Distribuzione:

- USA, Europa: Italia



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

Presenza e/o segnalazioni in Italia ad oggi:

- Dal 2013 in Veneto (prov. VI, TV, PD)
- dal 2014 in Lombardia (prov. MN solo *P. juglandis* non associato a *G. morbida*),
- dal 2015 in Piemonte (prov. AL, CN, TO, VC, NO, AT in quest'ultima solo *P. juglandis*)
- dal 2015 in Friuli (prov. PN il solo *P. juglandis* non associato a *G. morbida*);
- 2016 in Lombardia (prov. MI, *G. morbida* e *P. juglandis*)

- 2018 (settembre 2018) in Toscana (FI):
- 2019 (primavera) in Emilia-Romagna (prov. RE)

Rischio di introduzione:**Indagini EUROPHYT – Scambi commerciali con Paesi Terzi**

Per *G morbida* la probabilità di ingresso in nuove aree è stimata elevata, specialmente con legname di *Juglans* e *Pterocarya* con o senza corteccia e con materiale da imballaggio in legno non trattato. Per *P. juglandis* il rischio è elevato nel caso di importazione di legname di *Juglans* con corteccia.

Il commercio di piante o sementali può rappresentare una via d'ingresso molto agevole. Le aree dove vengono coltivate le diverse specie di *Juglans* della regione EPPO possono essere fortemente minacciate.

INTERCETTAZIONI *Geosmithia morbida*

Negli ultimi 5 anni (2016-2020) non sono state segnalate intercettazioni

INTERCETTAZIONI *Pityophthorus juglandis*

Negli ultimi 5 anni (2016-2020) non sono state segnalate intercettazioni

PARTE C – DIAGNOSI**Normativa di riferimento:****EUROPEA:****NAZIONALE:****Protocolli standard di riferimento****PM7 EPPO:**

- *Pest risk analysis for Thousand cankers disease (G. morbida and P. juglandis)*. EPPO, (2015) - www.eppo.int/QUARANTINE/Pest_Risk_Analysis/PRA_intro.htm

Tipologie diagnostiche previste all'interno del monitoraggio cofinanziato (riportato in IO 05)

- (IV) **Morphological identification** (per vettore)
- (V) **Microscopically identification** (per fungo in caso di presenza sviluppo strutture fungine nel selective test)
- (VIII) **Selective culture media**
- (XV) **PCR**
- (XIX) **PCR+Sequencing** (va indicato quando si fa insieme la PCR e si invia al sequenziamento)

- (XX) Real Time - PCR**Matrice** (cod. IO 05 IV, V)

- *Pityophthorus juglandis*
- *Geosmithia morbida*
- Branche e rametti di *Juglans nigra* con piccoli fori da scoltide e imbrunimenti subcorticali

Tipologia di test

Non ci sono ad oggi protocolli ufficiali e l'identificazione dell'insetto e del fungo vengono effettuati su base morfologica. (cod. IO 05 IV, V, VIII)



Il micelio prodotto, su substrato di PDA (potato dextrose agar) (cod. IO 05 VIII), deve essere osservato al microscopio per confermare la presenza di *G. morbida*.

Questo fungo ascomicete produce un micelio ialino e conidiofori penicillati portanti conidi ialini cilindrico-ellissoidali di (4.0-) 4.5-6 (-8) x (1.5-) 2 (-2.5) micron.

Le colonie, a lenta crescita, sono +/- lobate e di colore da bianco a marroncino chiaro.



Foto microscopio e piastra:

https://www.regione.piemonte.it/web/sites/default/files/media/documenti/2018-11/disseccamento_rameale_del_noce_geosmithia_morbida_e_pityophthorus_juglandis.pdf

Per *G. morbida* una conferma può essere effettuata con identificazione molecolare effettuando estrazione del DNA e successiva amplificazione tramite PCR convenzionale di regioni note del DNA ribosomiale (ITS). (Juzwik et al., 2015). Cod. IO 05 XV, XIX, XX).

Un gruppo di lavoro americano ha sviluppato e pubblicato recentemente un lavoro di identificazione simultanea del fungo patogeno e del suo vettore attraverso l'uso di microsatelliti (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185087>)

Riferimenti Bibliografici

- Blackman MW (1928) The genus *Pityophthorus* Eichh. In North America: a revisional study of the *Pityophthori*, with descriptions of two new genera and seventy-one new species. Bulletin of the New York State College of Forestry at Syracuse University 25, 5–183.
- Cranshaw W & Tisserat N (2008) Pest alert Walnut twig beetle and Thousand Cankers Disease of Black walnut. <http://www.ext.colostate.edu/pubs/insect/0812alert.pdf> [accessed on 4 April 2016].
- Cranshaw W & Tisserat N (2012) Questions and answers about Thousand Cankers Disease of walnut. Department of Bioagricultural Sciences and Pest Management, Colorado State University. <http://bspm.agsci.colostate.edu/files/2013/03/Questions-and-Answers-Revision-April-2012.pdf> [accessed on 4 April 2016].
- EPPO (2015). Pest Risk Analysis for Thousand cankers disease (*Geosmithia morbida* and *Pityophthorus juglandis*). www.eppo.int/quarantine/pest_risk_analysis/PRA_intro.htm [accessed on 4 April 2016].
- Faccoli M, Simonato M & Rassati D (2016) Life history and geographical distribution of the walnut twig beetle, *Pityophthorus juglandis* (Coleoptera: Scolytinae), in southern Europe. Journal of Applied Entomology. doi: 10.1111/jen.12299.
- Kolařík M., Freeland E., Utleý C. & Tisserat N. (2011) *Geosmithia morbida* sp. nov., a new phytopathogenic species living in symbiosis with the walnut twig beetle (*Pityophthorus juglandis*) on *Juglans* in USA, Mycologia, 103:2, 325-332, DOI: 10.3852/10-124
- Juzwik, J., Banik, M. T., Reed, S. E., English, J. T., and Ginzell, M. D. 2015. *Geosmithia morbida* found on weevil species *Stenomimus pallidus* in Indiana. Plant Health Progress doi:10.1094/PHP-RS-14-0014
- Luna EK, Sitz RA, Cranshaw WS & Tisserat NA (2013) The effect of temperature on survival of *Pityophthorus juglandis* (Coleoptera: Curculionidae). Environmental Entomology 42, 1085–1091.
- Mayfield AE, Fraedrich SW, Taylor A, Merten P & Myers SW (2014) Efficacy of heat treatment for the Thousand Cankers Disease vector and pathogen in small Black walnut logs. Journal of Economic Entomology 107, 174–184.
- Montecchio L & Faccoli M (2014) First record of thousand cankers disease *Geosmithia morbida* and walnut twig beetle *Pityophthorus juglandis* on *Juglans nigra* in Europe. Plant Disease 98, 696.
- Montecchio L, Fanchin G, Simonato M & Faccoli M (2014) First record of thousand cankers disease fungal pathogen *Geosmithia morbida* and walnut twig beetle *Pityophthorus juglandis* on *Juglans regia* in Europe. Plant Disease 98, 1445.
- Serdani M, Vlach JJ, Wallis KL, Zerillo M, McCleary T & Tisserat NA (2013) First report of *Geosmithia morbida* and *Pityophthorus juglandis* causing thousand cankers disease in butternut. Plant Health Progress. doi:10.1094/PHP-2013-1018-01-BR.
- Utleý C, Nguyen T, Roubtsova T, Coggeshall M, Ford TM, Grauke LJ et al. (2013) Susceptibility of walnut and hickory species to *Geosmithia morbida*. Plant Disease 97, 601–607.
- Zerillo MM, Ibarra Caballero J, Woeste K, Graves AD, Hartel C, Pscheidt JW et al. (2014) Population Structure of *Geosmithia morbida*, the Causal Agent of Thousand Cankers Disease of Walnut Trees in the United States. PLoS ONE 9, e112847.

Autori: Dott. Enzo Marinelli, Dott. Salvatore Vitale e Dott. Fabrizio Pennacchio – CREA-DC; GdL Monitoraggio Cofinanziato - UE