

***Phyllosticta citricarpa* - Macchia nera degli agrumi**

Posizione tassonomica:

- Regno: Funghi
- Phylum: Ascomycota
- Classe: Dothideomycetes
- Ordine: Botryosphaerales
- Famiglia: Phyllostictaceae
- Genere: *Phyllosticta*
- Specie: *Phyllosticta citricarpa* (GUIGCI)

Origini: Australia

Dove è stato segnalato: in Europa è assente. Segnalato in Sud Africa, America (Brasile, USA, Cuba), Asia (Cina, Butan, Indonesia, Filippine) Australia, Nuova Zelanda. Recentemente è stato accertato in diverse zone della Tunisia <https://gd.eppo.int/taxon/GUIGCI/distribution>.

Presenza e/o segnalazioni in Italia: Assente

Diffusione in Campania: Assente

Categoria fitosanitaria: Organismo nocivo da quarantena prioritario

Morfologia, biologia, sintomi e danni: *P. citricarpa* ha un impatto economico significativo sulla coltivazione di agrumi poiché rende i frutti inadatti alla commercializzazione sul mercato del fresco. Infezioni gravi possono causare cascole precoci dei frutti. I frutti asintomatici possono sviluppare sintomi durante la fase di trasporto o stoccaggio.

Nelle regioni in cui il fungo presenta un solo ciclo colturale annuale, gli ascocarpi e le ascospore prodotti sui residui colturali del suolo rappresentano la principale fonte di inoculo, mentre nelle aree in cui le piogge non sono limitate ad una sola stagione o laddove gli agrumi sono rifioriti, conidi e ascospore contribuiscono in egual misura alla diffusione della malattia.

Durante le piogge o le irrigazioni, le ascospore mature sono espulse dagli ascocarpi e diffuse da vento e acqua anche a lunga distanza. Il periodo critico per l'infezione comincia con l'allegagione e può avere una durata di 4-5 mesi, dopo i quali i frutti acquisiscono resistenza. Le foglie sono suscettibili fino a 10 mesi dopo lo sviluppo. Solitamente gli ascocarpi si sviluppano entro 40–180 giorni dalla caduta delle foglie.

Sui frutti, subito dopo l'infezione, il fungo rimane in uno stato di quiescenza fino alla maturazione e i sintomi si manifestano a distanza di molti mesi dall'infezione.

I picnidi con i conidi si sviluppano su frutti sintomatici e sulle foglie cadute al suolo. I conidi possono essere diffusi dalla pioggia ad altri giovani frutti e foglie ancora suscettibili.

I sintomi su foglie e germogli compaiono inizialmente come piccole macule circolari di colore rosso o marrone-rosso, visibili su entrambe le superfici della lamina fogliare. Con il tempo, le aree centrali delle macchie si scuriscono e presentano un anello marrone scuro-nerastro. Le lesioni rimangono piccole, non superano i 3 mm e, sulle foglie, sono spesso circondate da un alone giallo. Le lesioni sui

germogli, più comuni su limone, sono piccole (0,5–2 mm in diametro), tondeggianti, leggermente depresse, con un margine marrone-nerastro e un centro grigio o marrone chiaro. Nella zona centrale di tali lesioni possono essere occasionalmente presenti i picnidi.

I sintomi sui frutti sono molto variabili. I principali sintomi sono:

Punti neri/macchie nere: sono lesioni poco profonde, grandi 3–10 mm in diametro, con al centro una piccola depressione di colore grigio-marrone chiaro con generalmente un bordo marrone scuro. Questo tipo di lesioni appaiono quando i frutti cominciano a maturare, anche prima dell'invasatura. Spesso, ma non sempre, al centro delle lesioni è possibile vedere i picnidi come punti neri piccoli e leggermente sollevati.

Macchie a lentiggine: si manifestano su frutti maturi, solitamente dopo la raccolta, e sono piccoli (1-3 mm di diametro) e leggermente depressi. Possono essere di colore grigio, marrone, rosso o bruno e non scoloriscono con il tempo. Spesso, ma non sempre, presentano un bordo rosso o marrone. I picnidi sono solo occasionalmente presenti. Le lesioni di tipo lentiginoso sono spesso associate alle lesioni puntiformi nere.

Falsa melanosi: questo tipo di lesioni appare solitamente sul frutto verde. Le macchie sono piccole, sollevate, di colore marrone scuro - nero spesso circondate da altre macchioline scure. Le lesioni sono prive di picnidi e possono coalescere con il progredire della stagione. Questo tipo di sintomi è stato osservato nelle aree agrumicole dove *P. citricarpa* è presente da molto tempo.

Macchie virulente: le lesioni precedenti possono coalescere e dare le macchie virulente. Questo tipo di sintomo appare verso la fine della stagione ed è il più grave perché le lesioni si estendono in profondità nella buccia e causano caduta prematura dei frutti e gravi perdite post-raccolta. Le macchie sono di colore marrone-nero, con una consistenza coriacea e possono coprire l'intero frutto. I picnidi possono essere presenti.

In rari casi sono state segnalate lesioni definite come:

Macchie a pizzo/merletto: lesioni superficiali giallo-marrone con una trama e bordi non definiti. Le lesioni compaiono quando i frutti sono ancora verdi e possono coprire gran parte della loro superficie. La macchia a pizzo è considerata una variante della falsa melanosi.

Macchie a crepe: macchie superficiali, leggermente rialzate, incrinare, di dimensioni variabili e a margini irregolari, e prive di picnidi. Tali lesioni appaiono su frutti di età superiore ai 6 mesi. In Brasile, questo tipo di sintomo è stato associato alla presenza dell'acaro *Phyllocoptruta oleivora*.

Piante ospiti: Tutte le piante appartenenti ai generi *Citrus*, *Poncyrus* e *Fortunella*.

Siti a rischio da ispezionare: Aziende di produzione, aree verdi pubbliche e private, frutti in importazione da paesi in cui il patogeno è presente presso i punti di entrata del porto di Napoli e del porto di Salerno.

Cosa controllare: Pianta da trapianto; Ramo con foglie; Frutto

Misure di Monitoraggio

- Ispezioni visive

- Campionamenti

Ispezioni visive, campionamenti:

In campo, su foglie e germogli verificare la presenza di piccole macule circolari di colore rosso o marrone-rosso con un anello marrone scuro-nerastro. Su germogli, più comunemente limone, presenza di lesioni piccole, tondeggianti, leggermente depresse, con un margine marrone-nerastro e un centro grigio o marrone chiaro. Controllare sui frutti la presenza di punti neri/macchie nere, macchie a lentiggine, macchie di falsa melanosi, macchie virulenti, a pizzo/merletto o a crepe.

In fase di campionamento, prelevare foglie e germogli da diversi punti della chioma da conservare in sacchetti di plastica ben chiusi. Nei periodi più caldi munirsi di borsa termica ed evitare il contatto diretto tra campioni e siberini.

Specifiche sui campionamenti ai PIF

I frutti specificati originari dei Paesi ove è presente il fungo sono ispezionati visivamente al punto di ingresso o sul luogo di destinazione così come stabilito dalle misure di emergenza per i frutti di agrumi in importazione. Tali ispezioni vengono effettuate su campioni di almeno 200 frutti di ciascuna specie dei frutti specificati per partita di 30 tonnellate, o relativa parte, selezionati in base a ogni eventuale sintomo di *P. citricarpa*.

Qualora vengano individuati sintomi di *P. citricarpa* durante le ispezioni, la presenza dell'organismo nocivo deve essere confermata o esclusa mediante test diagnostici effettuati sui frutti che manifestano sintomi di infezione.

Ispezioni visive

<i>Cosa guardare</i>	<i>Quando</i>
Foglie e frutti Su foglie presenza di piccole macule circolari di colore rosso o marrone-rosso su entrambe le superfici della lamina fogliare, con un anello marrone scuro-nerastro. Su germogli presenza di lesioni piccole, tondeggianti, leggermente depresse, con un margine marrone-nerastro e un centro grigio o marrone chiaro. Sui frutti sintomi di punti neri/macchie nere, macchie a lentiggine, di falsa melanosi, virulente, a pizzo/merletto o a crepe	Tutto l'anno

Campionamenti

<i>Cosa prelevare</i>	<i>Come conservare</i>	<i>Note</i>
Germogli, foglie e frutti sintomatici	In sacchetti di plastica ben chiusi, trasportati a temperatura ambiente ed evitando sbalzi termici.	Il campionamento in pieno campo va effettuato da marzo a luglio e da settembre a novembre

Test diagnostici

Le singole lesioni su foglie, germogli e frutti sono coltivate su substrati nutritivi. Le colonie ottenute sono identificate morfologicamente (tasso di crescita del micelio, produzione di pigmento, dimensione e forma delle spore e spessore della guaina delle spore).

Il materiale vegetale (foglie, germogli e frutti) deve essere disinfettato in superficie con etanolo al 70% o ipoclorito di sodio (NaOCl) (ad es. candeggina commerciale 2% di cloro attivo) per 30 secondi, quindi sezionato e posizionato asetticamente sul mezzo di coltura. Gli isolamenti sono fatti su CHA (cherry decoction agar) o PDA (potato dextrose agar) modificato. Le colonie sospette scure, a crescita lenta, che si sviluppano sono, successivamente, trasferite su substrato CHA per valutare il tasso di crescita e su substrato OA (oatmeal agar) per verificare la produzione di pigmenti gialli.

L'identificazione del fungo può essere fatta anche mediante analisi PCR convenzionale o real-time PCR su DNA estratto dalle colonie isolate come riportato negli allegati del PM7/017(2), oppure mediante LAMP-PCR. Per le lesioni sui frutti, è preferibile eseguire l'analisi molecolare direttamente sul DNA estratto dalle lesioni in quanto tale approccio ha una affidabilità superiore rispetto alla procedura di isolamento ed analisi molecolare.

Se un campione risulta positivo mediante saggi PCR convenzionali, è necessaria una conferma dell'identità del fungo mediante una analisi Real-time PCR o sequenziamento, poiché la PCR classica rileva non solo *P. citricarpa* ma anche *P. citriasiana*, una specie recentemente descritta. I metodi sono rapidi e hanno un'affidabilità superiore al 99% e sono effettuati mediante test indipendenti su più lesioni.

Diagnosi

<i>Matrice</i>	<i>Tipologie diagnostiche</i>
Germogli, foglie e frutti	Selective culture media PCR (dopo selective culture media in caso di presenza di strutture fungine oppure direttamente da materiale vegetale)

Normativa di riferimento:

Regolamento di esecuzione (UE) 2019/2072 (All. II, parte A, punto B; All. VII);

Regolamento Delegato (UE) 2019/1702 – Organismo nocivo prioritario



Phyllosticta citricarpa (GUIGCI) - <https://gd.eppo.int>



Phyllosticta citricarpa (GUIGCI) - <https://gd.eppo.int>



Phyllosticta citricarpa (GUIGCI) - <https://gd.eppo.int>



Phyllosticta citricarpa (GUIGCI) - <https://gd.eppo.int>