



Ministero delle  
politiche agricole  
alimentari e forestali



## PROCEDURE DI INDAGINE PER:

### 1- Nome comune della malattia/Common name of the disease

Cancro resinoso del pino/*Pitch canker of pine*

### 2 - Nome scientifico/Scientific name

*Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell (formalmente *Gibberella circinata*)

**Sinonimi:** *Fusarium subglutinans* f. sp. *pini* Hepting; *F. moniliforme* Sheldon var. *subglutinans* Wollenweber; *F. lateritium* f. sp. *pini* Hepting.; *Fusarium subglutinans* (Wollenweber & Reinking) Nelson *et al.* f. sp. *pini* Correll *et al.* 1991.

### 3 - Codice EPPO/EPPO Code

GIBBCI

### 4 - Posizione tassonomica/Taxonomy

- Phylum: Ascomycota
- Classe: Sordariomycetes
- Ordine: Hypocreales
- Famiglia: Nectriaceae
- Genere: *Fusarium*
- Specie: *Fusarium circinatum*

### 5 - Aspetti epidemiologici dell'organismo/Epidemiology of the pest

*Fusarium circinatum* è in grado di infettare tanto le piante adulte in pieno campo quanto le giovani piantine in vivaio. Nel primo caso le infezioni si verificano in estate, mentre, nel secondo caso avvengono mediante seme infetto o terriccio contaminato.

*F. circinatum* penetra nei tessuti dell'ospite attraverso ferite meccaniche o i fori dovuti all'azione di insetti del legno (es. *Pityophthorus* spp., *Ips* spp.) (Storer *et al.*, 1998). Le stesse ferite provocate dal distacco dei coni durante la raccolta possono costituire una via di ingresso per il patogeno. Le infezioni si verificano per lo più in estate in condizioni di temperatura e umidità elevate; particolarmente favorevoli sono i temporali estivi (Dwinell *et al.*, 1985). Ad esempio, in California la malattia è più grave in prossimità della costa. La distribuzione della malattia indica che un abbassamento delle temperature blocca lo sviluppo fungino (Gordon *et al.*, 2001).

La maggior parte delle infezioni è causata dai macroconidi e/o microconidi (forma asessuale), mentre le ascospore sembrano svolgere un ruolo secondario (forma sessuale).

La diffusione naturale dell'inoculo fungino da una pianta all'altra è favorita dal vento e dall'azione vettrice degli insetti (es. *Pityophthorus* spp., *Ips* spp.; Romon *et al.*, 2007; Erbilgin *et al.*, 2008). Sulle lunghe distanze, invece, la diffusione avviene attraverso la movimentazione di materiale vegetale e semi infetti o vettori associati a materiale legnoso non lavorato. *Fusarium circinatum* può infestare i semi di pino internamente (*seed-borne*) o essere presente come contaminante superficiale (Dwinell, 1999; Storer *et al.*, 1998), ma non è noto come questa infestazione si verifica. Il patogeno può sopravvivere nel suolo e per oltre un anno nel legno infetto.

Le caratteristiche macro- e micromorfologiche di *Fusarium circinatum* sono descritte dettagliatamente da Nirenberg e O'Donnell (1998) e Britz *et al.* (2002). Le colonie su Potato Dextrose Agar (PDA) mostrano una crescita media di 4,7 mm/gg a 20°C. Il micelio aereo è pressoché bianco, un pigmento violetto o porpora scuro diffonde dal centro della colonia. Macro- e microconidi sono prodotti abbondantemente su Spezieller-Nährstoffagar (SNA). I primi sono tipicamente 3-settati, leggermente ricurvi, 32–48 x 3,3–3,8 µm; i microconidi sono obovoidi, principalmente non settati, ma talvolta con un setto, aggregati in false teste. Possono essere presenti conidiofori mono- e polifialidici. Caratteristica distintiva per la specie è la presenza di ife sterili attorcigliate; le clamidospore sono assenti.

### Sintomi/Symptoms

I sintomi possono comparire a qualsiasi stadio di età, sia su piantine in vivaio che su piante adulte. In vivaio *Fusarium circinatum* può essere presente sia nei tessuti del seme (**seed-borne**) che sulla superficie esterna come contaminante, o nel terreno (**soil-borne**). In vivaio, quindi, il patogeno può causare **morie nei semenzali** in pre- o post-emergenza ("*damping-off*") o produrre necrosi sulle radici e al colletto di **giovani piantine**, con successivo disseccamento degli aghi. Sotto la corteccia, in prossimità del colletto, si possono osservare tessuti imbruniti ed impregnati di resina. È importante ricordare che si tratta di sintomi che possono essere confusi con quelli indotti da altri patogeni presenti nel terreno.

Sulle piante adulte il sintomo più evidente è rappresentato da cancri sulle branche e sul tronco con abbondante emissione di resina, che può colare anche molto al di sotto del cancro. I cancri si accrescono durante l'inverno e la primavera fino a circondare l'organo colpito, causando il disseccamento della parte distale. I vecchi cancri possono essere osservati durante tutto l'anno. L'infezione solitamente non porta a morte la pianta, ma ne rallenta la crescita e ne deturpa il portamento. Solo le specie native del sud-est degli Stati Uniti, particolarmente sensibili alla malattia, possono giungere a morte.

Il patogeno può infettare anche i germogli provocando il disseccamento degli apici dei rami nella parte più alta della chioma. Gli aghi inizialmente ingialliscono, poi diventano di colore rosso-bruno ed infine cadono, lasciando spoglio il tratto del germoglio colpito. In corrispondenza delle depressioni lasciate dagli aghi caduti, sono prodotti cuscinetti di spore color rosa salmone. Nelle piante adulte anche i coni femminili presenti su branche infette possono essere colonizzati dal fungo ed andare incontro ad aborto prima del raggiungimento della maturità. Tuttavia, in relazione al periodo ed alla gravità dell'infezione i coni seppur infetti risultano per lo più asintomatici. Il patogeno può infettare anche grandi radici esposte e danneggiate da ferite con un conseguente generale deperimento della pianta.

### 6 - Piantе ospiti/Hosts

*Fusarium circinatum* è stato segnalato su oltre 30 specie appartenenti al genere *Pinus*. In Nord America, i suoi ospiti principali sono *Pinus radiata*, *P. elliotii*, *P. taeda*, *P. palustris*, *P. virginiana* e *P. patula*. Tra le specie europee e mediterranee colpite da questo patogeno si annoverano *Pinus sylvestris*, *P. halepensis*, *P. pinaster* e *P. pinea*. *Fusarium circinatum* è stato anche segnalato su diverse specie di origine nordamericana diffuse in Europa come *P. contorta* e *P. strobus* così come su alcune specie asiatiche quali *P. densiflora* e *P. thunbergii*. Esiste anche una segnalazione su *Pseudotsuga menziesii* apparentemente non associata ad alcun danno.

Le indagini in Italia dovrebbero riguardare:

- Tutte le specie di pino (*Pinus* spp.) presenti nel territorio nazionale, con particolare attenzione a *P. radiata* e ad altre specie sensibili quali *P. nigra*, *P. pinaster*, *P. pinea*, *P. sylvestris* e *P. halepensis*.
- *Pseudotsuga menziesii* (abete di douglasia).

#### **7 - Aree a rischio da monitorare/Risk areas to monitor**

- Vivai di piante ornamentali
- Vivai di piante forestali
- *Garden center*
- Aree forestali a pineta
- Aree forestali a pineta destinate alla raccolta del seme
- Ambito urbano (giardini e parchi pubblici e privati)
- Seme di importazione di *Pinus* spp. e *Pseudotsuga menziesii*
- Seme di produzione nazionale di *Pinus* spp. e *Pseudotsuga menziesii*
- Siti di lavorazione del legname

## PARTE A – MONITORAGGIO/SURVEY

### Normativa di riferimento su modalità di monitoraggio:

#### EUROPEA:

- **Regolamento di Esecuzione (UE) 2019/2072** della Commissione del 28 novembre 2019 che stabilisce condizioni uniformi per l'attuazione del Regolamento (UE) 2016/2031 relativo alle misure di protezione contro gli organismi nocivi per le piante che colloca *F. circinatum* tra gli organismi nocivi da quarantena rilevanti per l'Unione europea di cui è nota la presenza nel territorio. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/?uri=CELEX:32019R2072>
- **Decisione di Esecuzione (UE) 2019/2032** della Commissione del 26 novembre 2019 che stabilisce misure per impedire l'introduzione e la diffusione nell'Unione di *F. circinatum*. In particolare, vengono definite le procedure per la movimentazione di vegetali appartenenti al genere *Pinus* e alla specie *Pseudotsuga menziesii* destinati alla piantagione, compresi semi e coni utilizzati ai fini della moltiplicazione. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/?uri=CELEX%3A32019D2032>

#### NAZIONALE:

### Standard di riferimento

#### PM EPPO:

- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), 2019. PM 7/91 (2) *Fusarium circinatum* (formerly *Gibberella circinata*). Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 49 (2), 228–247.


#### OTHER:

### Misure di monitoraggio:

- Ispezione visiva - *Visual inspection*
- Campionamento – *Sample taking*

<b>Ispezione visiva/Visual inspection</b>
---

<p><b>Condizione dell'ispezione:</b></p> <p>Piante adulte e semenzali: tutto l'anno</p> <p>Semi: tutto l'anno</p>	
---	--

Quando	Cosa guardare	Immagini
Tutto l'anno	<ul style="list-style-type: none"> <li>- la presenza di disseccamenti degli apici dei rami nella parte più alta della chioma;</li> <li>- la presenza di ripiegamenti dei germogli con presenza di aghi che diventano gialli, poi rossi ed infine cadono lasciando spoglia la parte colpita;</li> <li>- la presenza, ove possibile, di coni femminili che abortiscono e rimangono attaccati al ramo infetto;</li> <li>- la presenza, ove possibile, sul tronco o sulle branche di cancri leggermente depressi, caratterizzati da abbondante emissione di resina.</li> </ul>	 <p>Fonte: EFSA Panel on Plant Health, 2010  <a href="http://www.efsa.europa.eu/fr/scdocs/doc/1620.pdf">http://www.efsa.europa.eu/fr/scdocs/doc/1620.pdf</a></p>

### Campionamento/Sample taking

<b>Cosa prelevare</b>	<b>Immagini</b>	<b>Come conservare</b>
<p><b>Piantine in vivaio sintomatiche</b></p>	 <p style="margin-top: 20px;">Fonti:  <a href="http://ephytia.inra.fr/fr/C/19539/VigiHorti-Symptomes">http://ephytia.inra.fr/fr/C/19539/VigiHorti-Symptomes</a>  <a href="https://www.regione.vda.it/gestione/riviweb/templates/informatorenew.aspx?pkArt=1455">https://www.regione.vda.it/gestione/riviweb/templates/informatorenew.aspx?pkArt=1455</a></p>	<p>Inserire il campione in un sacchetto di plastica pulito ed etichettato, conservare in frigorifero a 4°C e consegnare al laboratorio di analisi.</p>
<p><b>Piante adulte</b>            Sui germogli e rami prestare attenzione alla presenza di ingiallimenti, arrossamenti e caduta degli aghi, disseccamento dei germogli e dell'apice dei rami.            Verificare la presenza di tessuto necrotico sottocorticale e tagliare il ramo sotto il margine della zona necrotica.            Su tronco e branche verificare la presenza di cancri con fuoriuscita di resina. Asportare la corteccia fino a evidenziare il margine del cancro; prelevare porzioni di tessuto con corteccia, floema e xilema al confine tra sano e infetto.</p> <p><b>Semi</b></p>		

<p>Prelevare per ogni lotto importato un campione di 450 semi. Il numero di semi da analizzare è relativo al lotto e varia anche in funzione del metodo scelto per l'identificazione del patogeno (<i>Methodologies for sampling of consignments</i>; IPPC, 2008).</p>	 <p>Fonti:  <a href="https://www.regione.vda.it/gestione/riviweb/templates/aspx/informatorenew.aspx?pkArt=1455">https://www.regione.vda.it/gestione/riviweb/templates/aspx/informatorenew.aspx?pkArt=1455</a></p>	
--	--	--

## PARTE B – INFORMAZIONI SULLO STATUS DEL PATOGENO

<p><b>Inquadramento normativo</b></p> <p><b><u>EUROPEA:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• La decisione 2007/433/CE è abrogata con successiva Decisione di Esecuzione (UE) 2019/2032 della commissione del 26 novembre 2019.</li> </ul> <p><b><u>NAZIONALE:</u></b></p>
---

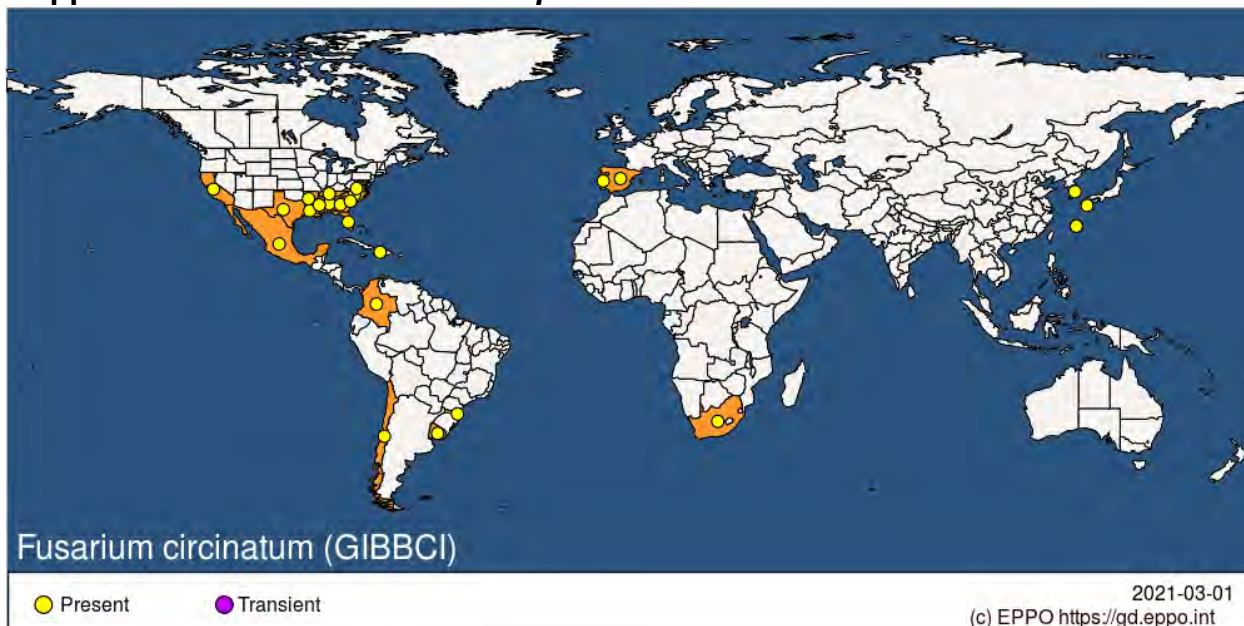
<p><b>Inquadramento EPPO</b></p> <p><i>Fusarium circinatum</i> è inserito nella lista EPPO A2 list no. 306.</p>
---

<p><b>Origine del patogeno/Origin of the pathogen</b></p> <p>Sebbene ci siano ancora molti aspetti da chiarire, <i>F. circinatum</i> sembra essere di origine nordamericana e si è rapidamente diffuso in quasi tutti i continenti, Europa inclusa. La prima segnalazione risale al 1946 in Nord Carolina (USA) su <i>Pinus</i> spp.</p>
--

<p><b>Distribuzione geografica/Geographical distribution</b></p> <p>Attualmente <i>Fusarium circinatum</i> è presente in:</p> <p><b>Africa:</b> Sud Africa  <b>America:</b> Brasile, Cile, Colombia, Haiti, Messico, USA, Uruguay  <b>Asia:</b> Giappone, Sud Corea</p> <p><b>Regione EPPO:</b>  Fino al 2005 non ci sono stati isolamenti e segnalazioni affidabili nella regione EPPO. Segnalato per la prima volta nel 2005 in Spagna (Landeras <i>et al.</i>, 2005) e successivamente in Portogallo (2007) (Bragança <i>et al.</i>, 2009), ma la sua diffusione è in entrambi i casi piuttosto limitata. Al contrario, i focolai segnalati in Francia (EPPO, 2006, 2009) e in Italia (Puglia), rispettivamente nel</p>
--

2006 e nel 2007, sono stati dichiarati eradicati grazie alle misure fitosanitarie intraprese tempestivamente (<https://gd.eppo.int/reporting/article-150>)

### Mappa EPPO/CABI/Distribution map EPPO/CABI



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

### Presenza e/o segnalazioni in Italia/Presence and/or reports in Italy

In Italia esiste un'unica segnalazione su *Pinus halepensis* e su *Pinus pinea* (Carlucci *et al.*, 2007) (eradicato come da attività di monitoraggio nazionale, 2008-2019).

### Rischio di introduzione/Probability of entry

#### Indagini EUROPHYT – Scambi commerciali con Paesi Terzi

Le modalità d'ingresso del patogeno dalle aree in cui è presente sono le seguenti: 1) materiale vegetale destinato alla moltiplicazione (semi, piantine e talee), 2) legno, 3) materiale vegetale per scopi decorativi (alberi di Natale, rami, conifere, ecc.), 4) suolo e substrati di crescita e 5) agenti naturali biotici e abiotici (insetti, vento, attività umane, ecc.). In merito al "materiale da imballaggio in legno", il comma 4, art. 1, della recente Decisione di Esecuzione (UE) 2019/2032 della Commissione del 26 novembre 2019 lo definisce come: materiale da imballaggio in legno in forma di casse, cassette, gabbie, cilindri e imballaggi simili, palette di carico semplici, palette-casse ed altre piattaforme di carico, spalliere di palette, paglioli, anche non effettivamente utilizzati nel trasporto di oggetti di qualsiasi tipo, ad eccezione del legno grezzo di spessore uguale o inferiore a 6 mm, del legno trasformato mediante colla, calore e pressione o mediante una combinazione di questi fattori, e dei paglioli che sostengono spedizioni di legname, costruiti a partire da legname dello stesso tipo e qualità di quello delle spedizioni e che rispettano le stesse prescrizioni fitosanitarie dell'Unione del legname della spedizione.

#### INTERCETTAZIONI EUROPHYT *F. circinatum*/INTERCEPTIONS OF *F. circinatum*

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



Country of export	Year	Object	Plant species (N. of interceptions)
USA	2017	Intended for planting: seeds	<i>Pinus taeda</i> (1)

## PARTE C – DIAGNOSI/DIAGNOSIS

### Normativa di riferimento:

#### EUROPEA:

#### NAZIONALE:

### Standard di riferimento

#### PM EPPO:

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), 2019. PM 7/91 (2) *Fusarium circinatum* (formerly *Gibberella circinata*). Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 49 (2), 228–247.

### Tipologie diagnostiche previste all'interno del monitoraggio cofinanziato (come riportato nella IO 05)

- **(IV) Morphological identification**
- **(V) Microscopically identification** (per fungo in caso di sviluppo di 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

- Tessuti vegetali: branche, rami, aghi, corteccia, coni, segatura e substrati di crescita
- Semi

### Tipologia di test

#### **Isolamento del fungo da tessuto vegetale su terreni di coltura semi-selettivi ed identificazione morfologica con successiva conferma molecolare (Cod. IO 05 IV, V, VIII)**

Il substrato selettivo DCPA (loos et al., 2004; Andrews & Pitt, 1986) viene utilizzato per l'isolamento del fungo da tessuti vegetali. Per l'identificazione morfologica si utilizzano substrati (PDA e SNA) per la crescita dei funghi isolati (EPPO, 2019 - Appendix 1). La descrizione macro- e micromorfologica delle colonie è riportata in Nirenberg e O'Donnell (1998) e Britz *et al.* (2002) ed è sintetizzate in EPPO (2019; tabella 2). In caso di sospetto positivo la conferma deve essere

effettuata da coltura pura del fungo mediante uno dei metodi molecolari (EPPO, 2019 - Appendix 3 o 4).

**Diagnosi molecolare: identificazione diretta mediante tecniche di PCR convenzionale e real-time PCR (Cod. IO 05 XV, XIX, XX)**

Estrazione del DNA (EPPO, 2019 - Appendix 2), a seguire si può effettuare o una PCR convenzionale (Cod. IO 05 XV) (EPPO, 2019 - Appendix 3) oppure una Real-time PCR (Cod. IO 05 XX) (EPPO, 2019 - Appendix 3 o 5 o 6).

In caso di positività della PCR convenzionale è necessaria una conferma o mediante sequenziamento (Cod. IO 05 XIX) (EPPO, 2019 - Appendix 4) o mediante real-time PCR (Cod. IO 05 XX) su una diversa regione conservata.

In caso di positività della real-time PCR è necessaria una conferma o mediante sequenziamento da coltura pura (Cod. IO 05 XIX) (EPPO, 2019 - Appendix 4) oppure mediante real-time PCR (Cod. IO 05 XX) su di una diversa regione conservata (EPPO, 2019 - diagramma di flusso di figura 1).

**Riferimenti bibliografici**

- Andrews S., J. Pitt, 1986. Selection medium for *Fusarium* species and dematiaceous hyphomycetes from cereals. *Applied and Environmental Microbiology* **5**, 1235–1238.
- Bragança H., E. Diogo, F. Moniz, P. Amaro, 2009. First report of pitch canker on pines caused by *Fusarium circinatum* in Portugal. *Plant Disease*. Instituto Nacional de Recursos Biológicos I.P., Quinta do Marquês, Edifício da exEFN, 2780 – 159 Oeiras, Portugal, 93.
- Britz H., T.A. Coutinho, M.J. Wingfield, W.F.O. Marasas, 2002. Validation of the description of *Gibberella circinata* and morphological differentiation of the anamorph *Fusarium circinatum*. *Sydowia* **54**, 9–22.
- Carlucci A., L. Colatruglio, S. Frisullo, 2007. First report of pitch canker caused by *Fusarium circinatum* on *Pinus halepensis* and *P. pinea* in Apulia (Southern Italy). *Plant Disease* **91**, 1683.
- Dwinell, L.D.; Barrows-Broadus, J.B.; Kuhlman, E.G. 1985. Pitch canker: A disease complex. *Plant Disease*, 69, 270–276.
- Dwinell, L.D. 1999. Contamination of *Pinus radiata* seeds in California by *Fusarium circinatum*. In Proceedings of the Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, States Department of Agriculture (USDA) Forest Service, San Diego, CA, USA, 1–4 November 1999.
- EFSA Panel on Plant Health, 2010. *EFSA Journal* **8(6)**, 1620 on line <http://www.efsa.europa.eu/fr/scdocs/doc/1620.pdf>
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), 2006. First report of *Gibberella circinata* in France. EPPO Reporting Service 2006/104, n. 5. European and Mediterranean Plant Protection Organization, Paris, France.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), 2009. Situation of *Gibberella circinata* in France. EPPO Reporting services 2009/93, n. 5. European and Mediterranean Plant Protection Organization, Paris, France.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), 2019. PM 7/91 (2) *Fusarium circinatum* (formerly *Gibberella circinata*). *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **49 (2)**, 228–247.
- Erbilgin N., G. Ritokova, T.R. Gordon, D.L. Wood, A.J. Storer, 2008. Temporal variation in contamination of pine engraver beetles with *Fusarium circinatum* in native Monterey pine forests in California. *Plant Pathology* **57**, 1103–1108.
- Gordon TR, Storer AJ & Wood DL, 2001. The pitch canker epidemic in California. *Plant Disease* **85**, 1128–1139.
- IPPC, 2008. ISPM no. 31 Methodologies for sampling of consignments <https://www.ippc.int/publication/methodologies-sampling-consignments>.
- loos R., A. Belhadj, M. Menez, 2004. Occurrence and distribution of *Microdochium nivale* and *Fusarium* species isolated from barley, durum, and soft wheat grains in France from 2000 to 2002. *Mycopathologia* **158**, 351–362.
- Landeras E., P. Garcia, Y. Fernandez, M. Brana, O. Fernandez-Alonso, S. Mendez-Lodos, A. Perez-Sierra, M. Leon, P. Abad-Campos, M. Berbegal, R. Beltran, J. Garcia-Jimenez, J. Armengol, 2005. Outbreak of pitch canker caused by *Fusarium circinatum* on *Pinus* spp. in Northern Spain. *Plant Disease* **89**, 1015.
- Nirenberg H.I., K. O'Donnell, 1998. New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia* **90**, 434–458.
- Romon P., J. Iturrondobeitia, K. Gibson, B.S. Lindgren, A. Goldarazena, 2007. Quantitative association of bark beetles with pitch canker fungus and effects of verbenone on their semiochemical communication in Monterey pine forests in Northern Spain. *Environmental Entomology* **36**, 743–750.
- Storer A. J., Gordon T.R. & Clarck S.L. 1998. Association of the pitch canker fungus, *Fusarium subglutinans* f. sp. *pini* with Monterey pine seeds, and seedlings in California. *Plant Pathology* **47**, 649–656.

Autori: Salvatore Vitale, Enzo Marinelli. – CREA-DC Roma. GdL per “Monitoraggio cofinanziato reg. 652/2014”

