



## PROCEDURE DI INDAGINE PER:

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

Nematodi cisticoli della patata/Potato cyst nematodes

### 2 - Nome scientifico/Scientific name

*Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923; Skarbilovich, 1959)

*Globodera pallida* (Stone, 1973)

### 3 – EPPO Code:

HETDRO - *Globodera rostochiensis*

HETDPA - *Globodera pallida*

### 4 - Posizione tassonomica/Taxonomy

- Phylum: Nematoda
- Classe: Secernentea
- Ordine: Tylenchida
- Family: Heteroderidae
- Genere: *Globodera*
- Specie: *G. rostochiensis* e *G. pallida*

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

I nematodi del Genere *Globodera* sono nematodi cisticoli. La cisti rappresenta lo stadio vitale più resistente a condizioni climatico/ambientali avverse e permette al nematode di sopravvivere anche in assenza di piante ospiti.

Gli adulti presentano dimorfismo sessuale accentuato, i maschi sono vermiformi, mentre le femmine mature sono globose e sferiche. Gli stadi giovanili di seconda età, sotto lo stimolo degli essudati radicali delle piante ospiti, emergono dalle uova contenute all'interno delle cisti presenti nel terreno e si dirigono verso le radici delle piante penetrandovi prevalentemente nella zona degli apici radicali. In seguito, essi migrano per alcuni millimetri nel parenchima corticale, stabilendo un rapporto trofico con le cellule, che vengono trasformate in sincizi o cellule di trasferimento.

I maschi adulti vivono nella rizosfera delle piante mentre le femmine rimangono confinate per il resto del loro sviluppo all'interno delle radici colonizzate dove, passando attraverso altri due stadi giovanili, raggiungono quello adulto. Le femmine di *Globodera* man mano che si sviluppano e si

accregono, rompono l'epidermide della radice e sporgono all'esterno con la parte posteriore del corpo, mentre con la porzione cefalica restano attaccate al cilindro centrale continuando il processo di nutrizione. I maschi adulti invece fuoriescono dalla radice e vivono liberi nel terreno.

Le femmine vengono fecondate dai maschi vermiformi che si muovono attivamente. Dopo la copulazione i maschi muoiono, mentre le femmine rimangono attaccate alle radici e producono uova che si sviluppano all'interno del loro corpo globoso. In seguito, quando le femmine muoiono, la loro cuticola diventa rigida, chitinizzata, scura e si trasforma in cisti. Le femmine di *G. pallida* presentano una colorazione chiara, mentre quelle di *G. rostochiensis* assumono una colorazione giallo oro prima di trasformarsi in cisti.

Il ciclo vitale di *G. rostochiensis* e *G. pallida* è essenzialmente lo stesso. Per entrambe le specie, il limite soglia per la schiusa delle uova è di 10 °C (Den Ouden, 1960), ma tra 10 °C e 15 °C, il numero totale di larve di seconda età schiuse di *G. pallida* è superiore rispetto a *G. rostochiensis*; al contrario, sopra i 15 °C accade l'inverso (Franco, 1979; Schans, 1993).

I nematodi cisticoli della patata hanno diversi patotipi, cioè popolazioni che manifestano un diverso grado di virulenza nei confronti di cultivar o cloni differenti. In Europa sono stati identificati cinque patotipi di *G. rostochiensis* (Ro1, Ro2, Ro3, Ro4, Ro5) e tre di *G. pallida* (Pa1, Pa2, Pa3).

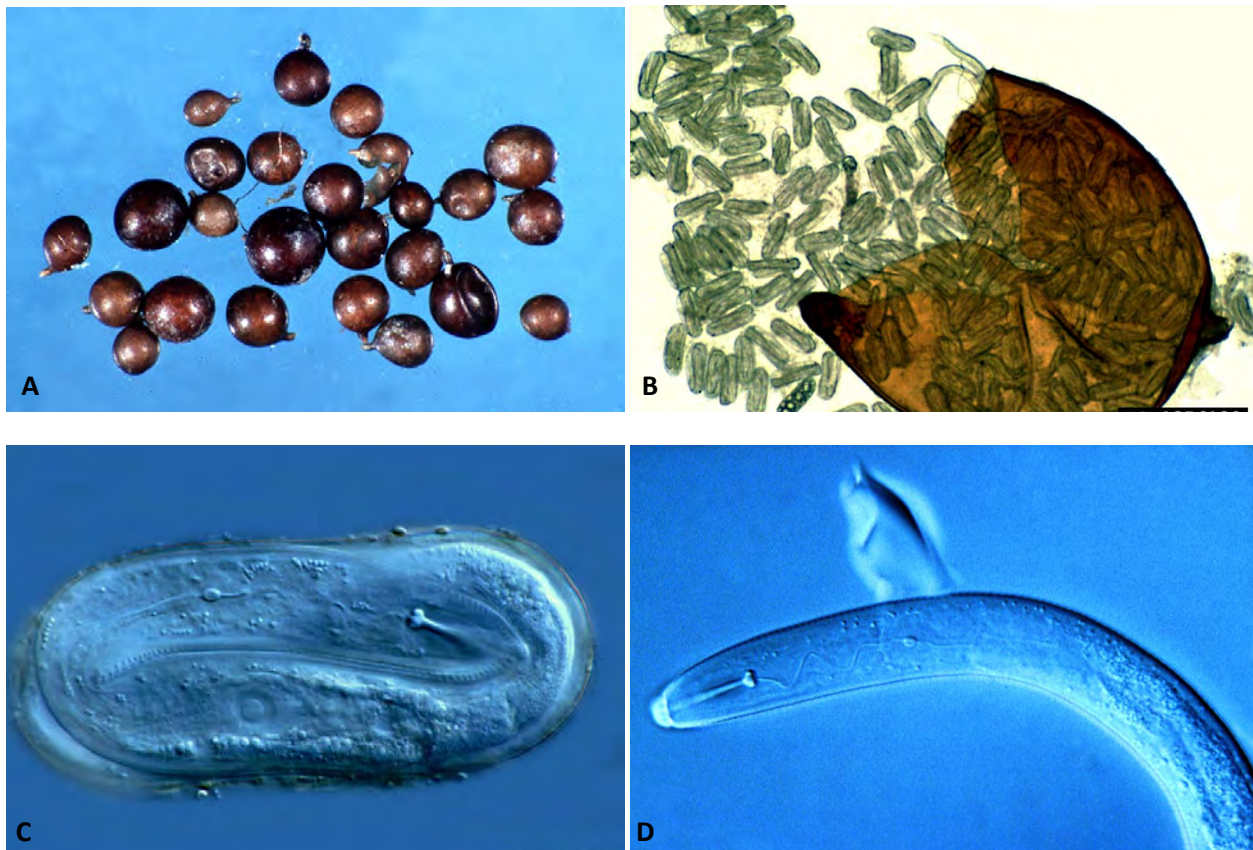


Foto: [www.invasive.org](http://www.invasive.org)

**A:** Cisti globose di *Globodera rostochiensis*

**B:** Cisti aperta di *Globodera rostochiensis* da cui fuoriescono uova

**C:** Uovo con all'interno lo stadio giovanile di *Globodera rostochiensis*

**D:** Estremità anteriore di uno stadio giovanile di *Globodera rostochiensis*

## 6 - Piante ospiti/Hosts

Le piante ospiti di *G. pallida* e *G. rostochiensis* sono limitate alla famiglia delle Solanacee.

- La patata (*Solanum tuberosum* L.) è la coltura ospite d'elezione per entrambe le specie di *Globodera*.

- Altre Solanacee ospiti sono, fra quelle coltivate, il pomodoro (*Solanum lycopersicum* L.), la melanzana (*Solanum melongena* L.) il peperone (*Capsicum annuum* L.)
- Alcune piante spontanee, ad esempio specie selvatiche di *Solanum* e *Lycopersicon*, che possono fungere da serbatoio di infestazione.

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

- Campi per la produzione di tuberi da seme
- Commercianti all'ingrosso di patate da seme (acquistati da altri paesi comunitari), soprattutto se i tuberi provengono da aree dove la malattia è endemica
- Punti di ingresso patate di importazione (tuberi seme e tuberi da consumo), soprattutto se proveniente da aree dove la malattia è endemica
- Campi per la produzione di patate da consumo e da trasformazione
- Magazzini di stoccaggio dei tuberi, compresi i magazzini doganali dove stazionano tuberi provenienti da Paesi terzi dove è stato segnalato il nematode.

## PARTE A – MONITORAGGIO/SURVEY

### Normativa di riferimento disponibile sulle procedure di monitoraggio:

#### EUROPEA:

- Decisione del Consiglio 2007/33/CE del 11 giugno 2007 relativa alla lotta ai nematodi a cisti della patata (*Globodera* spp.) e che abroga la direttiva 69/465/CEE

#### NAZIONALE:

- D.Lgs. 8 ottobre 2010, n. 186 Attuazione della direttiva 2007/33/CE relativa alla lotta dei nematodi a cisti della patata e che abroga la direttiva 69/465/CEE

### Standard di riferimento

#### PM EPPO:


- PM 9/26 (1) National regulatory control system for *Globodera pallida* and *Globodera rostochiensis*
- PM 3/70 (1) Export certification and import compliance checking for potato tubers
- PM 3/75 (1) *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*: sampling soil attached to ware potato tubers for detection prior to export and at import



**EFSA card** ( <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/sp.efsa.2019.EN-1566>)

### Misure di monitoraggio:

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

### Ispezione visiva/*Visual inspection*

Quando	Cosa guardare	Immagini
Durante la fioritura	I sintomi dell'infestazione di <i>G. rostochiensis</i> e <i>G. pallida</i> sulle piante di patata sono aspecifici e si manifestano in modo disforme nell'appezzamento: le piante appassiscono durante le ore calde della giornata, arrestano il loro sviluppo e presentano foglie piccole e ingiallite, un ridotto apparato	 <p>Danni in campo da <i>Globodera</i> spp.  <a href="https://www.invasive.org/browse/detail.cfm?imgnum=1356080">https://www.invasive.org/browse/detail.cfm?imgnum=1356080</a></p>

	<p>radicale e tuberi di piccole dimensioni. La coltura, inoltre, manifesta generalmente un ritardo della fioritura nella zona infestata dell'appezzamento.</p> <p>Estirpare le piante sofferenti e verificare la presenza sulle radici delle femmine bianche o dorate o delle cisti brune a seconda dello stadio di maturazione e della specie di nematode.</p> <p>In considerazione del fatto che le cisti brune sono di fatto le femmine morte e chitinizzate, esse si staccano facilmente e naturalmente dalla radice e possono essere ritrovate nel terreno soltanto con l'analisi nematologica.</p>	 <p>UGA2131077 Femmine di <i>Globodera pallida</i> su radici di patata <a href="https://gd.eppo.int/taxon/HETDRO/photos">https://gd.eppo.int/taxon/HETDRO/photos</a></p>  <p>Globodera rostochiensis (HETDRO) - <a href="https://gd.eppo.int">https://gd.eppo.int</a> Femmine e una cisti di <i>Globodera rostochiensis</i> su radici di patata <a href="https://gd.eppo.int/taxon/HETDRO/photos">https://gd.eppo.int/taxon/HETDRO/photos</a></p>
--	--	--

**Campionamento/Sample taking**

<b>Cosa prelevare</b>	<b>Immagini</b>	<b>Come conservare</b>
-----------------------	-----------------	------------------------

**Campi di patate da seme**

Prima della semina è necessario prelevare un campione di terreno di dimensioni standard pari ad almeno 1500 ml terreno/ha, che verrà messo tutto in estrazione.

Il campione dovrà essere prelevato con almeno 100 carotaggi/ha, secondo una griglia rettangolare che copra l'intera parcella, mediante una sonda (carotatore) prelevando il terreno fino alla profondità di 25-35 cm (strato in cui sono presenti le radici). (D.lgs 8 ottobre 2010 n°186 attuazione direttiva 2007/33/EC art.3 e 5)



<https://scubla.it/it/prodotti/gestione-ambientale/campionamento-e-analisi-del-terreno/trivelle-manuali-semplfici-2349-detail.html>

Il campione prelevato in ogni campo monitorato dovrà essere chiuso in un sacchetto di plastica, con un apposito cartellino identificativo del campione deve riportare: la data di prelievo, il nome della località, le coordinate GPS del punto di prelievo.

**N.B.**

Il campione da prelevare in campo è sempre di 1500-2000 ml di terreno/ha, ma il volume da mettere in estrazione in laboratorio può essere ridotto a 400 ml di terreno/ha se:

- nessuna coltivazione specie sensibili nei 6 anni precedenti
- assenza di nematodi nelle precedenti analisi e non coltivazione di piante ospiti successivamente agli esami

**Campi per la produzione di patate da consumo e da trasformazione**

Il campionamento può essere effettuato in qualsiasi momento dell'anno, anche sulla coltura in atto.

Il campione di terreno da prelevare in campo è sempre di 1500-2000 ml/ha, ma il volume da mettere in estrazione in laboratorio deve essere minimo di 400 ml/ha). (D.lgs 8 ottobre 2010 n°186 attuazione direttiva 2007/33/EC art.3 e 5)

**Terreno attaccato ai tuberi di patate da seme**

- I campionamenti vanno effettuati in magazzini contenenti patate-seme destinate all'esportazione
- Durante lo smistamento e l'imballaggio, i tuberi possono essere spazzolati, puliti o maneggiati in modo da raccogliere il terreno attaccato sulla loro superficie.
- In alternativa, un numero di confezioni o scatole (vedere EPPO Standard PM 3/70) dovrebbe essere selezionato a caso, svuotato e il terreno raccolto. Deve essere assicurato che il campione sia



Foto Giulia Torrini CREA DC©



**N.B.** Tutta l'attrezzatura utilizzata per lo smistamento e la pulizia dovrebbe essere gestita in modo tale che il rischio di contaminazione incrociata tra lotti diversi sia ridotto al minimo.

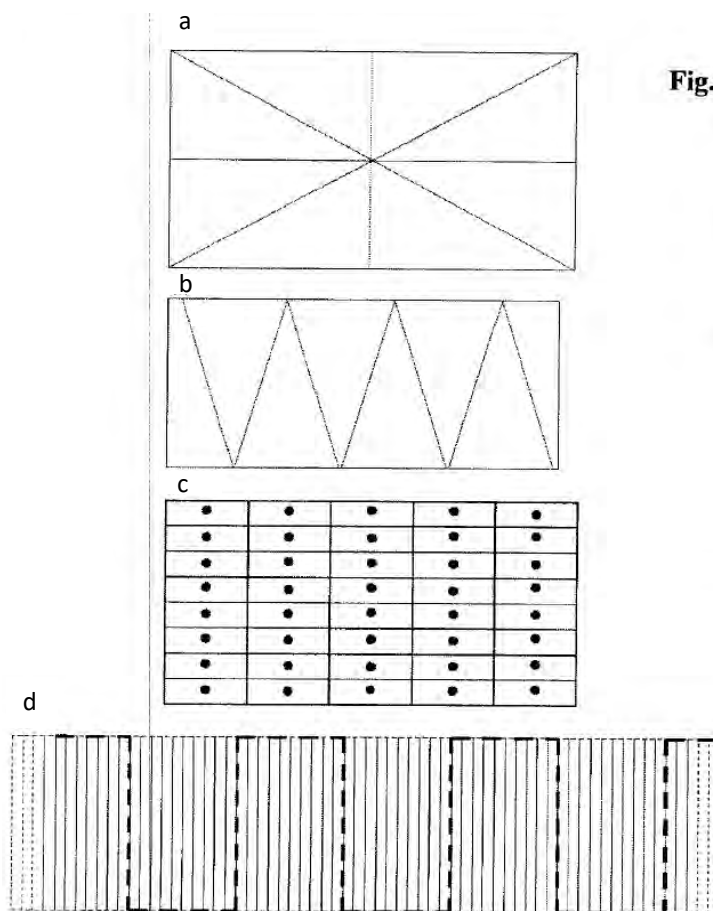
rappresentativo dell'intera spedizione.

N.B.

Ulteriori verifiche possono essere effettuate su patate da seme in importazione seguendo la stessa metodologia prevista dal PM 3/75 (1) *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*: sampling soil attached to ware potato tubers for detection prior to export and at import”.

## SCHEMI DI CAMPIONAMENTO DEL TERRENO

(Circolare MIPAAF – Servizio Fitosanitario Centrale n.0007406 del 30/03/2012)



**Fig. 1** Esempi di campionamento del terreno:

- campionamento lungo le diagonali della parcella e carotaggi del terreno seguendo uno schema a stella;
- campionamento e prelievo di terreno procedendo a zig-zag, al fine di ottenere una copertura omogenea;
- campionamento e raccolta di campioni secondo una griglia: prelevare 1 campione di terreno per ciascun rettangolo di 100 m<sup>2</sup> (circa 16,7 m x 6 m);
- campionamento del terreno secondo una griglia (questo campionamento può essere usato anche con coltura in atto), per esempio: se si richiedono 100 carotaggi/ha con una distanza di 1 m fra le file, è necessario campionare 10 file con 10 carotaggi per fila su un appezzamento di 1 ha. Perciò in un appezzamento di 100 m x 100 m, deve essere campionata 1 fila ogni 10 m.

**Nota:** Nei campi di produzione di patate, nel caso in cui si rilevassero dei sintomi, come specificato in precedenza nella sezione **Ispezione/Visual Inspection**, un maggior numero di carotaggi dovrà essere concentrato nelle zone di campo sintomatiche prelevando nel complesso la stessa quantità di terreno per unità di superficie. Sempre in queste zone, in aggiunta al campionamento di terreno, dovranno essere prelevate e analizzate anche alcune piantine sintomatiche con terreno aderente a tuberi e radici.



## PARTE B – INFORMAZIONI SULLO STATUS del PEST

### Inquadramento normativo disponibile

#### EUROPEA:

- Decisione del Consiglio 2007/33/CE del 11 giugno 2007 relativa alla lotta ai nematodi a cisti della patata (*Globodera* spp.) e che abroga la direttiva 69/465/CEE
- Regolamento di esecuzione (UE) 2019/2072
- Union Quarantine pest (Annex II B) Reg 2019/2072

#### NAZIONALE:

- D. Lgs. 8 ottobre 2010, n. 186 Attuazione della direttiva 2007/33/CE relativa alla lotta dei nematodi a cisti della patata e che abroga la direttiva 69/465/CEE

### Inquadramento EPPO

EPPO list A2

### Origini:

I nematodi cisticoli della patata sono indigeni delle regioni andine del Perù e della Bolivia; in particolare si suppone che il loro centro di origine si trovi nell'area circostante il lago Titicaca. L'introduzione in Europa è avvenuta probabilmente a metà del XIX secolo attraverso l'importazione di patate da seme con terreno aderente (Evans et al., 1975).

### Distribuzione:

#### *Globodera rostochiensis*

- Africa: Algeria, Egitto, Kenia, Libia, Marocco (intercezzazione), Ruanda, Sierra Leone, Sud Africa, Tunisia, Uganda, Zimbabwe (intercettazione)
- America: Bolivia, Canada, Cile, Colombia, Ecuador, Messico, Panama, Peru, Stati Uniti d'America, Venezuela
- Asia: India, Indonesia, Iran, Giappone, Kazakhstan, Libano, Oman, Pakistan, Filippine, Sri Lanka, Tajikistan
- Europa: Albania, Armenia, Austria, Belarus, Belgio, Bosnia Herzegovina, Bulgaria, Croazia, Cipro, Repubblica Ceca, Danimarca, Estonia, Isole Faroe, Finlandia, Francia, Georgia, Germania, Grecia, Ungheria, Islanda, Irlanda, Italia, Lettonia, Liechtenstein, Lituania, Lussemburgo, Malta, Norvegia, Paesi Bassi, Polonia, Portogallo, Regno Unito, Romania, Russia, Serbia, Slovacchia, Slovenia, Spagna, Svezia, Svizzera, Turchia, Ucraina.
- Oceania: Australia, Nuova Zelanda, Isole Norfolk

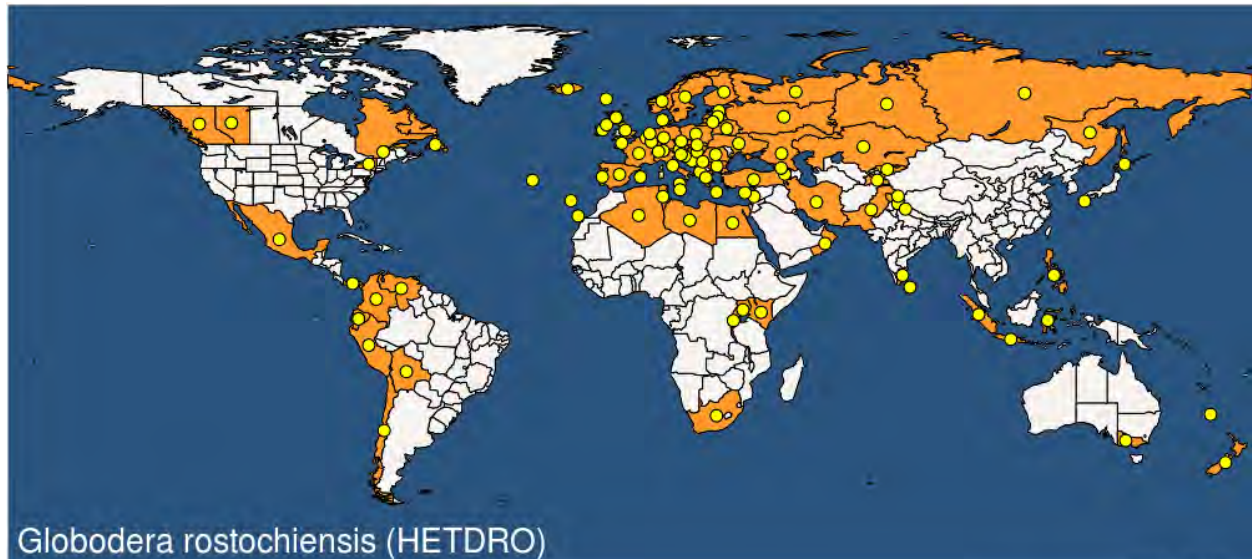
#### *Globodera pallida*

- Africa: Algeria, Kenia, Tunisia
- America: Argentina, Bolivia, Canada, Cile, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Isole Falkland, Messico, Panama, Perù, Stati Uniti d'America, Venezuela
- Asia: India, Giappone, Pakistan
- Europa: Austria, Bielorussia, Belgio, Bosnia Herzegovina, Bulgaria, Croazia, Cipro, Repubblica Ceca, Danimarca, Estonia, Isole Faroe, Finlandia, Francia, Germania, Grecia, Ungheria, Islanda, Irlanda, Italia, Lussemburgo, Malta, Norvegia, Paesi Bassi.

Polonia, Portogallo (Madeira), Regno Unito, Romania, Serbia, Slovenia (transiente), Spagna (Baleari, Canarie), Svezia, Svizzera, Turchia.

- Oceania: Nuova Zelanda

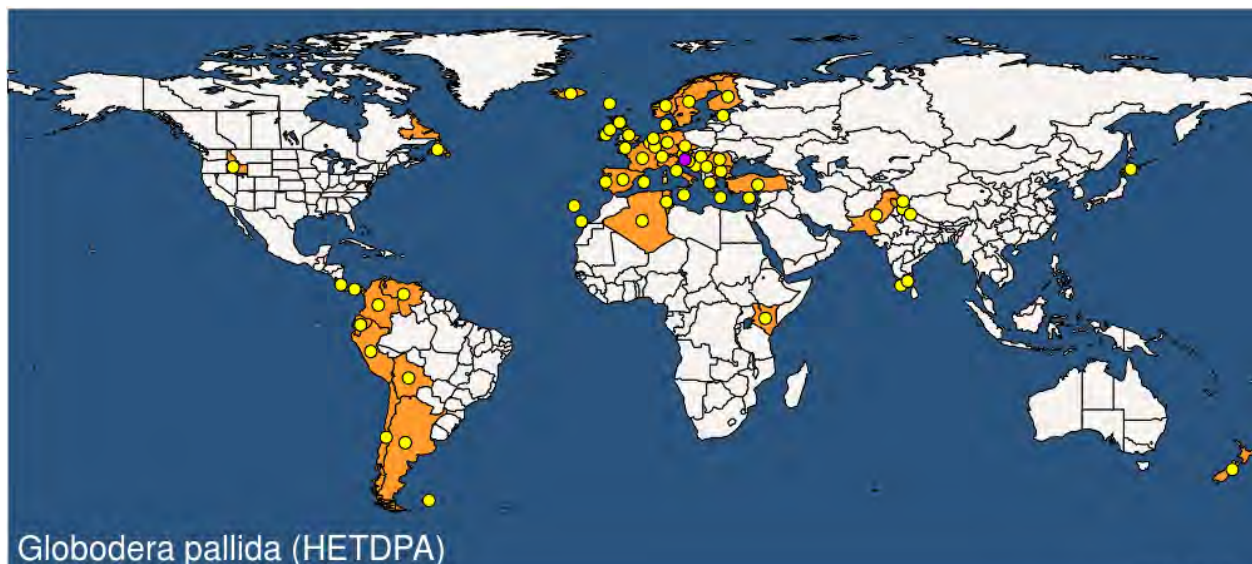
### Mappa EPPO/CABI



● Present    ● Transient

2021-03-18  
(c) EPPO <https://gd.eppo.int>

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



● Present    ● Transient

2021-03-18  
(c) EPPO <https://gd.eppo.int>

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

### Presenza e/o segnalazioni in Italia:

*Globodera rostochiensis* è stata segnalata per la prima volta in Italia agli inizi degli anni '60 (Buo, 1961), mentre *G. pallida* nel 1977 (Ambrogioni, 1977).

Ad oggi, le due specie sono diffuse nella maggior parte delle zone di coltivazione delle solanacee (Abruzzo, Campania, Sicilia, Puglia, Emilia-Romagna, Lazio, Provincia Autonoma di Bolzano). *Globodera pallida*, inoltre, è stata rinvenuta in Piemonte e Valle d'Aosta solo in aree montane e in giardini privati.

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

**INTERCETTAZIONI ULTIMI 5 ANNI *Globodera pallida***

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

Country of Export	year	Object	Plant Species (No. of Interceptions)
Morocco	2019	Soil / growing medium	1
Algeria	2017	Soil / growing medium	1

**INTERCETTAZIONI ULTIMI 5 ANNI *Globodera rostochiensis***

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

Country of Export	year	Object	Plant Species (No. of Interceptions)
China	2019	Intended for planting: already planted	<i>Ficus microcarpa</i> (1)
Egypt	2017	Soil / growing medium	1
Egypt	2017	Other living plants fruit and vegetables	<i>Solanum tuberosum</i> (1)

## PARTE C – DIAGNOSI

### Normativa di riferimento per Protocolli diagnostici

EUROPEA

ITALIANA

### Protocolli standard di riferimento

#### PM 7 EPPO:

- PM 7/40 (4) *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*
- PM 7/119 (1) Nematode extraction
- PM 3/30 (1) Phytosanitary procedure. *Globodera rostochiensis* & *Globodera pallida* soil sampling methods

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

- **(II) Visual symptoms diagnosis** (diagnosi visiva per sintomi specifici/sospetti generalmente su stock di materiale campionato)
- **(III) Extraction** (completo di osservazione allo stereomicroscopio)
- **(V) Microscopically identification** (per identificazione della specie di nematodi)
- **(XIV) ELISA**
- **(XV) PCR**
- **(XX) Real Time PCR**

Estrazione cisti (cod. IO 05 II e III)	Matrice
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Metodo di Baunacke e/o metodo delle strisce di carta</li> <li>- Apparato di Fenwick</li> <li>- Centrifuga di Schuiling</li> </ul>	Terreno asciutto
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Elutriatore di Seinhorst</li> <li>- Flottazione</li> <li>- Wye washer</li> </ul>	Terreno asciutto o umido

### Identificazione

#### Identificazione morfologica (cod. IO 05 V)

L'identificazione delle cisti a livello di genere si basa sulla forma delle cisti stesse. Mentre per quanto riguarda la determinazione a livello di specie all'interno del genere *Globodera*, le differenze diagnostiche più importanti sono:

- Cisti: numero di creste cuticolari tra la vulva e l'ano e rapporto di Granek in area perineale.
- Secondo stadio larvale: lunghezza dello stiletto e forma dei bottoni dello stiletto

Le chiavi per il riconoscimento delle specie di *Globodera* sono presenti in:

- PM 7/40 (4) *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*

### **Identificazione molecolare:**

I test PCR più comuni sono:

- Multiplex PCR test (Bulman & Marshall, 1997) (cod. IO 05 XV)
- ITS PCR-RFLP test (Thiéry & Mugniéry, 1996) (cod. IO 05 XV)
- Real-time PCR tests for the identification of *G. rostochiensis*, *G. pallida* and *G. tabacum* based on LSU rDNA (ClearDetections Kit) (EPPO, 2017) (cod. IO 05 XX)
- Diagnosis of *G. pallida* and *G. rostochiensis* PCNs using Taqman® real-time PCR developed by Fera, GB (EPPO, 2017) (cod. IO 05 XX)
- High-throughput diagnosis of PCNs (*Globodera* spp.) in soil samples using real-time PCR (Reid et al., 2015) (cod. IO 05 XX)
- Qualitative detection of viability and identification of PCNs (*Globodera* spp.) using RNA-specific real-time RT-PCR (EPPO, 2017) (cod. IO 05 XX)

### **Riferimenti Bibliografici**

- Ambrogioni L. (1977) Sull'identità di due popolazioni italiane di nematodi cisticoli della patata. *Redia* 60, 261-273.
- Bulman S.R., Marshall J.W. (1997). Differentiation of Australasian potato cyst nematode (PCN) populations using the polymerase chain reaction (PCR). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 25, 123–129.
- Buo G. (1961). Un nuovo parassita della patata in Italia. *Informatore Fitopatologico* 11, 291-293.
- Den Ouden H. (1960). Periodicity in spontaneous hatching of *Heterodera rostochiensis* in the soil. Report of the Fifth International Symposium in Plant Nematology. *Nematologica*, Supplement II, 101– 105.
- Evans K., Franco J., De Scurrah M.M. (1975). Distribution of species of potato cyst nematodes in South America. *Nematologica*, 21, 365–369.
- Franco J. (1979). Effect of temperature on hatching and multiplication of potato cyst-nematodes. *Nematologica*, 25, 237–244.
- Reid A., Evans F.F., Mulholland V., Cole Y., Pickup J. (2015) High-throughput diagnosis of potato cyst nematodes in soil samples. *Plant Pathology: Techniques and Protocols* 1302, 137–148.
- Schans J. (1993). Population dynamics of potato cyst nematodes and associated damage to potato. Thesis (PhD). Wageningen University, Wageningen, the Netherlands.
- Thiéry M., Mugniéry D. (1996) Interspecific rDNA restriction fragment length polymorphism in *Globodera* species, parasites of solanaceous plants. *Fundamental and Applied Nematology* 19, 471–479.

Autori: Dott.ssa Giulia Torrini– CREA-DC; GdL Monitoraggio Cofinanziato - UE