



PROCEDURE DI INDAGINE PER:

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

Batteri agenti causali di Huanglongbing (di seguito batteri HLB)

- a) *Liberibacter asiaticus*
- b) *Liberibacter americanus*
- c) *Liberibacter africanus*

Insetti vettori

- d) Asian citrus psyllid
- e) Citrus psyllid; two-spotted citrus psyllid

Nome della malattia/*Disease name*

Citrus greening, huanglongbing (dal cinese malattia del drago giallo), HLB, yellow-shoot-disease

2 - *Nome scientifico/Scientific name*

Batteri HLB

- a) '*Candidatus Liberibacter asiaticus*'
- b) '*Candidatus Liberibacter americanus*'
- c) '*Candidatus Liberibacter africanus*'

Sinonimi/Synonyms: Citrus greening bacterium, huanglongbing bacterium, HLB bacterium

Acronimi/ Acronym: a) Las, b) Lam, c) Laf

Insetti vettori

- d) *Diaphorina citri* Kuwayana
Sinonimi: *Euphalerus citri* Kuwayana

- e) *Trioza erythrae* Del Guercio
Sinonimi: *Spanioza erythrae* Del Guercio; *Trioza merwei* Pettey

3 – *EPPO Code:*

1LIBEG

Batteri HLB

rispettivamente:

- a) LIBEAS,
- b) LIBEAM,
- c) LIBEAF

Insetti vettori

- d) DIAACI
- e) TRIZER

4 - Posizione tassonomica/Taxonomy

Batteri HLB

- Regno: Bacteria
- Phylum: Proteobacteria
- Classe: Alphaproteobacteria
- Ordine: Rhizobiales
- Famiglia: Phyllobacteriaceae
- Genere: 'Candidatus Liberibacter'
- Specie: a) 'Candidatus Liberibacter asiaticus'
b) 'Candidatus Liberibacter americanus'
c) 'Candidatus Liberibacter africanus'

Insetti vettori

- d) Phylum: Arthropoda
Classe: Insecta
Ordine: Hemiptera
Sottordine: Sternorrhyncha
Superfamiglia: Psylloidea
Famiglia: Liviidae
Genere: *Diaphorina*
Specie: *Diaphorina citri*

- e) Phylum: Arthropoda
Classe: Insecta
Ordine: Hemiptera
Sottordine: Sternorrhyncha
Superfamiglia: Psylloidea
Famiglia: Triozidae
Genere: *Trioza*
Specie: *Trioza erytreae*

5 Aspetti epidemiologici dell'organismo/Epidemiology of the pest

a, b, c - Batteri HLB

Le specie di *Candidatus Liberibacter* (Las, Lam e Laf) agenti causali della malattia huanglongbing (HLB) degli agrumi, sono batteri Gram-negativi non coltivabili *in vitro*, parassiti obbligati limitati al floema di piante ed emolinfa di psille (*Psyllidae*).

In natura sono trasmessi in maniera persistente - propagativa da diverse specie di psille (ordine Homoptera, famiglia *Psyllidae*). Possono essere trasmessi anche per innesto. I batteri sono stati identificati nei semi e nelle plantule di Citrus, ed anche se la trasmissione per seme è stata considerata come una potenziale via di disseminazione dei patogeni una cospicua serie di pubblicazioni non la ritiene significativa. I batteri HLB possono essere introdotti in nuove aree attraverso materiale infetto ma per la successiva diffusione è necessaria la presenza del vettore. Quando un vettore infetto si nutre su una pianta sana le trasmette il batterio che diffonde poi sistemicamente all'interno dell'ospite. Il periodo di latenza (periodo dopo il quale le giovani foglie inoculate dalle psille possono divenire infettive) può essere anche di soli 15 giorni, mentre il

periodo di incubazione (il periodo che va dall'inoculazione all'espressione dei sintomi) è compreso tra 1 e 2,5 anni anche se in alcuni casi è arrivato sino a 6 anni.

La trasmissione di HLB da parte degli psillidi vettori è di tipo persistente-propagativo: una volta acquisito (periodo di acquisizione: 1 ora), il batterio raggiunge l'emocele e viene veicolato attraverso l'emolinfa a tutti gli organi, incluse le ghiandole salivari. Da queste, il batterio verrà inoculato attraverso la saliva in una nuova pianta durante l'attività trofica del vettore (periodo di inoculazione: inferiore a 1 ora). Il periodo di latenza (intervallo di tempo che intercorre tra l'acquisizione del batterio e il suo successivo rilascio nelle secrezioni salivari) varia da 8 a 18 giorni. Una volta acquisito il batterio, l'insetto vettore mantiene la propria infettività per tutta la vita e tutti gli stadi di sviluppo sono in grado di trasmettere HLB. Il batterio inoltre si moltiplica all'interno dell'insetto. La possibile trasmissione di HLB per via transovarica è stata dimostrata per via sperimentalmente solo occasionalmente e in basse percentuali (2-6%) (Haapalainen, 2014; EFSA, 2019).

Le tre specie di *Ca. Liberibacter* hanno diversa distribuzione geografica (v. paragrafo distribuzione) e prendono il nome dal continente dove sono stati isolati per la prima volta. Las, trasmesso da *Diaphorina citri*, è presente principalmente in Asia e nelle Americhe. Lam, anch'esso trasmesso da *D. citri*, ad oggi è stato rinvenuto solo in Brasile. Laf, trasmesso da *Trioza erytrae*, è presente fondamentalmente in Africa. Inoltre, è stato osservato che entrambi gli psillidi *D. citri* e *T. erytrae* sono in grado di trasmettere tutte e tre le specie di batteri HLB in condizioni sperimentali.

Rispetto alle esigenze termiche, Laf produce sintomi nell'ospite a 20-24°C mentre è sensibile alle alte temperature al contrario di Las che è più tollerante al calore. Poco è noto relativamente a Lam.

Secondo uno studio, nel caso in cui i batteri HLB si dovessero insediare in Europa, la distanza di diffusione dovuta agli insetti vettori ed all'attività dell'uomo sarebbe di 20 km/anno.

5d - *Diaphorina citri*

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

Adulto – Il maschio ha dimensioni comprese tra 1.53 e 1.66 mm; la femmina tra 1.90 e 2.06 mm. L'adulto è generalmente di colore bruno. Il capo è leggermente più ristretto del torace, con vertice di colore grigiastro-bianco. Le antenne sono costituite da 10 segmenti filiformi e sono inserite alla base dei cono-frontali (questi ultimi sono caratteri distintivi degli psillidi in generale). Le antenne presentano i primi due segmenti basali di colore bruno, mentre dal terzo all'ottavo segmento il colore è giallastro con gli apici del quarto, sesto, ottavo di colore nero così come gli ultimi due segmenti. Occhi di colore scuro. Pronoto arrotondato e leggermente sinuoso nella parte anteriore, con due depressioni laterali (fovea) evidenti su ciascun lato. Scutello di colore dal bruno al bruno scuro con striature nere. Femore di colore bruno scuro, tibia e tarsi di colore dal bianco-giallastro al marrone. Le zampe posteriori sono ben sviluppate e atte al salto. L'addome è nero nella parte dorsale e bianco-verdastro nella parte ventrale. Le ali anteriori sono trasparenti (ialine) con maculature sparse e sono lunghe 2.4 volte la loro larghezza; sono ristrette alla base e si allargano verso l'apice, che si presenta arrotondato. Le ali posteriori sono lunghe e sottili; la loro lunghezza è pari a 0.9 volte quella delle ali anteriori e a 3 volte la propria larghezza (Fig. 1).

Uovo – Lunghezza pari a circa 0.3 mm, larghezza pari a 0.15 mm. Di colore giallo chiaro quando appena deposto, poi tende all'arancione brillante quando raggiunge la maturità (Fig. 2).

Neanide di 1° età – Lunghezza compresa tra 0.33 e 0.35 mm. Corpo allungato di colore generalmente giallo. Le antenne presentano due segmenti di lunghezza relativa 1:5. Le zampe sono segmentate, con il tarso che presenta due unghie finali. L'addome presenta 7 paia di setae ai margini (Fig. 3).

Neanide di 2° età - Lunghezza compresa tra 0.49 e 0.53 mm. Corpo di colore generalmente giallo. Le antenne presentano due segmenti di lunghezza relativa 1:2.8. Gli abbozzi alari sono già presenti e appaiono ben sperati. Il tarso tibiale presenta una seta con la forma di mazza da golf. Addome con scleriti alla base e una larga placca apicale che porta ai margini 7-8 paia di setae (Fig. 3).

Neanide di 3° età - Lunghezza compresa tra 0.69 e 0.72 mm. Corpo di colore generalmente giallo, con antenne e addome talvolta scuri. Le antenne presentano due segmenti di lunghezza relativa

1:4.5. Gli abbozzi alari sono sviluppati e sovrapposti. Il tarso tibiale presenta una seta con la forma di mazza da golf. La placca apicale dell'addome porta ai margini 15-17 paia di setae (Fig. 3).

Ninfa di 1° età - Lunghezza compresa tra 0.98 e 1.05 mm. Corpo di colore generalmente dal giallo al giallastro scuro. Le antenne presentano tre segmenti di lunghezza relativa 1.5:1:6 con tre sensilli e due spine. La placca apicale dell'addome porta ai margini 27-30 paia di setae (Fig. 3).

Ninfa di 2° età - Lunghezza compresa tra 1.45 e 1.58 mm. Corpo di forma ovale (lungo circa 1.2 volte la propria larghezza) e di colore generalmente dal giallo al giallastro scuro con il terzo segmento antennale nero. Le zampe sono relativamente corte, con 4 segmenti; il tarso presenta due unghie e una seta con la forma di mazza da golf. Addome con scleriti alla base e una larga placca apicale che porta ai margini 25-29 paia di sete (Fig. 3, 4). (EPPO PM 7/52, 2005).



Fig. 1 – Adulto di *Diaphorina citri*
(<https://gd.eppo.int/taxon/DIAACI/photos>).



Fig. 2 – Uova di *Diaphorina citri*
(<https://gd.eppo.int/taxon/DIAACI/photos>).



Fig. 3 – Stadi giovanili di *Diaphorina citri*
(<https://gd.eppo.int/taxon/DIAACI/photos>).



Fig. 4 – Ninfa di 2° età di *Diaphorina citri*
(<https://gd.eppo.int/taxon/DIAACI/photos>).

Biologia – Questa specie è multivoltina (arriva a compiere fino a 10 generazioni l'anno) e il periodo di sviluppo da uovo a adulto dura dai 14 ai 48 giorni. Le femmine possono vivere circa 30-60 giorni e sono molto feconde, producendo fino a 800 uova durante il loro ciclo vitale. Nei Paesi di origine della specie, l'ovideposizione avviene tra marzo e maggio; le uova sono deposte individualmente dentro i germogli in formazione o nelle gemme ascellari o comunque nelle parti giovani e tenere della pianta. La specie sverna come adulto e l'adulto svernante può sopravvivere fino a sei mesi. Gli adulti sono molto attivi e tendono a saltare appena vengono disturbati. Gli stadi giovanili si spostano raramente: sono prevalentemente sedentari e vivono raggruppati. La temperatura ottimale per lo sviluppo della popolazione è compresa tra 25 e 28°C, ma la specie è nota per essere tollerante anche a temperature più elevate. (EPPO PM 7/52, 2005; EPPO PM 9/27, 2020)

5e - *Trioza erytrae*

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

Adulto – Ha dimensioni di circa 4 mm; il maschio è più piccolo della femmina. L'adulto è generalmente di colore bruno chiaro con il tegumento ricoperto da corte setae. Il capo si presenta largo come il mesoscutello, con il margine occipitale arrotondato, il vertice di forma pentagonale e il margine anteriore profondamente inciso da una sutura mediana. Le antenne sono 2-3 volte la larghezza del capo e sono inserite alla base dei coni geno-frontali (questi ultimi sono caratteri distintivi degli psillidi in generale). L'antennomero apicale presenta una lunga seta appuntita e una seta troncata posta sull'apice. Il torace è fortemente arcuato con il pronoto visibile solo dall'alto. Le ali anteriori sono trasparenti (ialine), con venature visibilmente scure e sono allungate in una forma ovale che si restringe verso l'apice arrotondato. Sono lunghe circa 3 volte la loro larghezza e presentano corte setae in corrispondenza delle venature. Le ali posteriori hanno lunghezza pari a 1.6-1.8 volte quella delle ali anteriori e presentano fino a due setae sulla parte prossimale e due gruppi di setae sulla parte distale. Le zampe posteriori sono ben sviluppate e presentano un evidente meracanto sulla coxa, mentre la tibia ha spine nella parte basale con uno sperone apicale e due-tre speroni esterni. L'addome presenta delle sete sul secondo e terzo tergite nel maschio e sul terzo e quarto tergite nella femmina. Inoltre, sull'addome del maschio è presente una tipica punta arrotondata che nella femmina è invece affilata (Fig. 5, 6).

Uovo – Lunghezza pari a circa 0.3 mm. Di colore giallo chiaro quando appena deposto, poi tende all'arancione scuro quando raggiunge la maturità. Di forma cilindrica, con la parte anteriore appuntita all'insù e un corto stelo posteriore che corrisponde al punto di inserzione nei tessuti vegetali (Fig. 7).

Forme giovanili dalla 1° alla 4° età – Vi sono 5 stadi post-embryonali, di cui solamente l'ultimo ha caratteri distintivi evidenti. Gli altri quattro stadi giovanili si presentano appiattiti in visione dorso-ventrale e leggermente allungati, con una frangia di filamenti bianchi e setosi posta sui margini. Il colore varia dal giallo al verde oliva al grigio scuro. Le dimensioni dei primi quattro stadi giovanili sono rispettivamente: 0.25–0.41, 0.44–0.56, 0.63–0.75 e 0.94–1.13 mm (Fig. 8).

Ninfa di 5° età – Forma ovale, di lunghezza (1.38–1.66 mm) pari a circa 1.5 volte la larghezza (0.87–1.12 mm). Le antenne hanno 4-5 antennomeri. Il cefaloprototrace è separato dal resto del torace, che è intero. Gli abbozzi delle ali anteriori sono lunghi circa 0.8 mm con il lobo che si estende anteriormente oltre il margine anteriore dell'occhio. Setae di firma tronca e tubulare formano frange poste ai margini di ciascun lato del capo, degli abbozzi alari e dell'addome (Fig. 8). (EPPO PM 7/57, 2005)



Fig. 5 – Adulto maschio di *Trioza erytrae* (Cocuzza et al., 2017).



Fig. 6 – Adulto femmina di *Trioza erytrae* (Cocuzza et al., 2017).

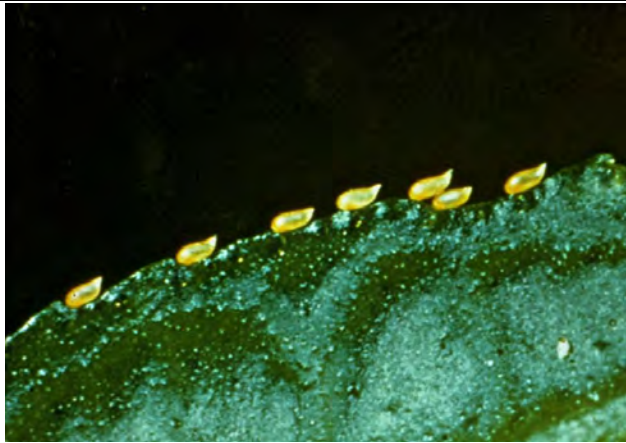


Fig. 7 – Uova di *Trioza erytreae*
(<https://gd.eppo.int/taxon/TRIZER/photos>).



Fig. 8 – Stadi giovanili di *Trioza erytreae*
(<https://gd.eppo.int/taxon/TRIZER/photos>).

Biologia – Questa specie è multivoltina (arriva a compiere fino a 6-8 generazioni l'anno). In campo si osservano fluttuazioni nelle popolazioni di maschi e femmine, ma le femmine sono sempre predominanti. Il periodo di sviluppo dell'uovo è di 6-15 giorni e il completo sviluppo dei cinque stadi giovanili dura da 17 a 43 giorni, per un ciclo vitale completo stimato tra 11 e 43 giorni. La vita della femmina adulta dura circa 28-48 giorni, ma può essere più lunga in assenza di tessuti vegetali freschi. L'ovideposizione può avvenire immediatamente dopo l'accoppiamento e le uova sono deposte con lo stelo posteriore piantato nel tessuto fogliare per mantenere le migliori condizioni di idratazione interna. Le femmine raggiungono il picco massimo della fertilità verso la metà del loro ciclo vitale e possono arrivare a deporre fino a 2000 uova. Gli adulti sono molto attivi e saltano o volano se disturbati. Gli stadi giovanili si spostano solo se disturbati, ma normalmente sono sedentari e vivono raggruppati formando colonie molto numerose sulla pagina inferiore della foglia della pianta ospite. La soglia di temperatura per lo sviluppo degli stadi giovanili è di circa 10-12°C. La specie è nota per essere molto sensibile alle temperature estremamente alte, mentre è favorita nelle aree fresche e umide sopra i 500-600 m (EPPO PM 9/27, 2020; Cocuzza *et al.*, 2017).

6 Piante ospiti/Hosts

a, b, c - Batteri HLB

Tutte le varietà delle specie di citrus coltivate, a prescindere dal portinnesto, sono suscettibili ai batteri. La seguente tabella è tratta dalla Pest survey card dell'EFSA (2019):

Ospite	Nome scientifico	Nome comune
Principali ospiti (agrumi)	<i>Citrus reticulata</i>	Mandarino
	<i>Citrus x sinensis</i>	Arancio dolce
	<i>Citrus x tangelo</i>	Mapo
Ospiti minori (agrumi)	<i>Citrus x aurantiifolia</i>	Limetta
	<i>Citrus x jambhiri</i>	Limone rugoso
	<i>Citrus x limettioides</i>	Limetta dolce di Palestina
	<i>Citrus x limon</i>	Limone
	<i>Citrus maxima</i>	Pummelo
	<i>Citrus medica</i>	Cedro
	<i>Citrus x paradisi</i>	Pompelmo
	<i>Citrus x limonia</i>	Rangpur
	<i>Fortunella</i>	Kumquat
	<i>margarita</i>	Arancio trifogliato
<i>Poncirus trifoliata</i>		
Altri ospiti	<i>Murraya paniculata</i>	Gelsomino arancio
	<i>Clausena lansium</i>	Wampi
	<i>Severinia buxifolia</i>	Severinia a foglia di bosso
	<i>x Citrofortunella</i>	Calamondino
	<i>microcarpa</i>	

HLB. La pervinca (*Catharanthus roseus*) è stata vista essere ospite in condizioni sperimentali.

Sintomi

Le tre specie batteriche (Las, Lam e Laf) causano sintomi simili.

Tipica della malattia è la presenza di rami gialli, dovuta all'ingiallimento delle foglie, visibili all'interno della chioma verde. I sintomi più caratteristici della malattia a livello fogliare sono le maculature clorotiche posizionate in maniera asimmetrica rispetto alla nervatura mediana. Altri sintomi includono ingiallimento delle nervature che possono ingrossarsi, gonfiarsi e suberificare o clorosi simili a quelle dovute alla carenza di zinco. Nelle fasi avanzate della malattia è possibile osservare foglie più spesse e coriacee dovute all'accumulo di amido. Indici di un'infezione grave e avanzata sono anche la presenza di foglie piccole, appuntite ed erette, conosciute come "orecchie di coniglio" e le "isole verdi", dove le aree verdi sulla foglia sono ridotte a piccole macchie circolari. Le piante con malattia avanzata manifestano inoltre, deperimento generale con defogliazione e cascola.

I frutti colpiti da HLB sono piccoli e asimmetrici. Nella fase di invaiatura non si colorano correttamente mostrando inversione di colore: la parte dello stilo tende a rimanere verde, mentre quella prossima al peduncolo diventa gialla o arancione. All'interno dei frutti possono essere presenti i resti scuri e avvizziti di semi abortiti, e la columella vascolare può mostrare una colorazione arancio-marrone. Il succo dei frutti infetti da HLB è stato descritto come salato e amaro o semplicemente privo di gusto.

6d - *Diaphorina citri*

Specie del genere *Citrus*:

- *Citrus aurantiifolia*
- *Citrus aurantium*
- *Citrus jambhiri*
- *Citrus limon*
- *Citrus medica*
- *Citrus paradisi*
- *Citrus reticulata*
- *Citrus sinensis*

O ibridi intergenerici (x *Citroncirus*, x *Citrifortunella*)

Altre specie appartenenti alla famiglia *Rutaceae*, tra cui:

- *Fortunella* spp.
- *Murraya paniculata*
- *Murraya koenigii*
- *Poncirus trifoliata*
- *Serverinia buxifolia*

Ficus carica come ospite accidentale.

Sintomi

Durante la loro attività trofica, gli insetti vettori di *Candidatus Liberibacter* spp. possono causare danni diretti alla pianta ospite. In particolare, *D. citri* è responsabile di distorsioni fogliari e defoliazioni. Inoltre, in caso di forti infestazioni, la pianta ospite presenta una crescita anomala dei nuovi germogli (aspetto a rosetta), che sono poi suscettibili a caduta. L'attività trofica del vettore ha anche come effetto collaterale la produzione di melata attraverso la formazione di tubuli cerosi, che ricoprono tutte le parti aeree della pianta e favoriscono a loro volta la formazione di fumaggini. (EPPO PM 9/27, 2020).

6e - *Trioza erytrae*

Specie del genere *Citrus*:

- *Citrus aurantiifolia*
- *Citrus limon*
- *Citrus jambhiri*
- *Citrus maxima*
- *Citrus medica*
- *Citrus paradisi*
- *Citrus reticulata*
- *Citrus unshiu*

O ibridi intergenerici (x *Citrifortunella*)

Altre specie appartenenti alla famiglia *Rutaceae*, tra cui:

- *Fortunella* spp.
- *Choisya* spp.
- *Poncirus* spp.
- *Clausena anisata*

Sintomi

Durante la loro attività trofica, gli insetti vettori di *Candidatus Liberibacter* spp. possono causare danni diretti alla pianta ospite. In particolare, *T. erytrae* è responsabile di severi sintomi fogliari quali arricciamenti, distorsioni, clorosi e arresto della crescita (Cocuzza *et al.*, 2017). L'attività trofica delle ninfe è inoltre responsabile della formazione di galle aperte a forma di coppa sulla superficie fogliare. L'attività trofica del vettore ha anche come effetto collaterale la produzione di melata, così che le foglie appaiono ricoperte di piccoli granuli bianchi e appiccicosi somiglianti a piccole uova. A sua volta la melata favorisce la formazione di fumaggini (EPPO PM 9/27, 2020).

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

Agrumeti. Sebbene la normativa impedisca l'importazione di piante di agrumi per la messa a dimora (plant for planting) dalle zone dove è presente HLB, la filiera delle piante per la messa a dimora deve comunque essere controllata e quindi andranno controllati i vivai (soprattutto quelli che importano le Rutaceae ornamentali che sono ospiti dei batteri HLB) e le zone contigue.

Nei piani di monitoraggio e sorveglianza è importante includere anche le piante che si trovano nei cortili e nei giardini visto che in USA e Brasile la malattia vi è stata spesso rinvenuta. Ad esempio, in California attualmente HLB è rinvenuta solo negli alberi delle residenze e non nelle aree di produzione.

PARTE A – MONITORAGGIO/SURVEY

Normativa di riferimento su modalità di monitoraggio:

EUROPEA:

- Regolamento UE 2016/2031

NAZIONALE: D. lgs. 19 agosto 2005 n. 214.

Standard di riferimento:

PM EPPO: PM 9/27 (1) 'Candidatus Liberibacter' species that are causal agents of Huanglongbing disease of citrus and their vectors: procedures for official control.

ALTRE:

EFSA (European Food Safety Authority), Parnell, S., Camilleri, M., Diakaki, M., Schrader, G., & Vos, S. (2019). Pest survey card on Huanglongbing and its vectors. *EFSA Supporting Publications*, 16(4), 1574E.

EFSA PLH Panel (EFSA Panel on Plant Health), Bragard C, Dehnen-Schmutz K, Di Serio F, Gonthier P, Jacques M-A, Jaques Miret JA, Justesen AF, Magnusson CS, Milonas P, Navas-Cortes JA, Parnell S, Potting R, Reignault PL, Thulke H-H, Van der Werf W, Civera AV, Yuen J, Zappalà L, Kertesz V, Streissl F and MacLeod A, 2021. Scientific Opinion on the pest categorisation of *Diaphorina citri*. *EFSA Journal* 2021;19(1):6357, 37 pp.

Misure di monitoraggio:

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

Ispezione visiva/*Visual inspection*

Conduzione dell'ispezione:




L'ispezione visiva riguarda principalmente gli agrumeti (campi in produzione e vivai). Dovrebbero essere controllate anche le piante nei cortili e nei giardini privati.

Devono essere controllate tutte le piante della famiglia Rutaceae presenti nel sito di ispezione.

Le piante devono essere esaminate sia per identificare:
- i sintomi da HLB
- i sintomi causati dalle psille

Per i sintomi e gli insetti vettori vedere foto nel resto del documento

<p>- la presenza delle psille.</p> <p>Le ispezioni visive devono essere condotte preferenzialmente lungo il perimetro dell'agrumeto, poiché le popolazioni degli insetti vettori tendono ad accumularsi sui bordi più esterni, di conseguenza anche la malattia HLB avrà più probabilità di essere lì presente.</p> <p>In campo: Effettuare la redazione del verbale d'ispezione con mappatura dei campi e delle piante ispezionate.</p>	
--	--

Quando	Cosa guardare	Immagini
<u>Sintomi da HLB:</u>		
<p>Sempre ma più evidenti in autunno e inverno</p>	<p>Visione d'insieme</p> <p>Presenza di Ingiallimenti (yellow shoots) e, negli stadi avanzati della malattia, defogliazione</p>	<div style="text-align: center;">  <p>Foto: T.R. Gottwald e S.M. Garsey</p> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;">  <p>Foto: Florida DOACS</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Foto: M. E. Rogers, UFL</p> </div> </div>



©Matthew Weinert/AQIS

Sintomi Foglie

Ingiallimenti:

- maculatura a chiazze asimmetriche
- ingiallimento delle nervature
- sintomi simili a carenza di zinco













Sintomi in A) arancio acido (*Citrus aurantium*) ; B) Lime (*Citrus aurantifolia*) ; D) Citrus sp; C, E, ed F) Pummelo (*C. maxima*). Foto: Xiaolan Sun, Florida DOACS, Division of Plant Industry.













Maculatura a chiazze (blotchy mottle) asimmetrica


INRA Centre de Recherches de Bordeaux, Bugwood.org

			<p>Ingiallimento delle nervature Foto: Florida DOACS, Division of Plant Industry</p>
			<p>Sintomi simili a quelli indotti dalla carenza di zinco ©Matthew Weinert/AQIS</p>
	<p>Altri sintomi:</p>		<p>Ispessimento e suberificazione delle nervature Foto: Pitino M</p>
	<p>- ispessimento e suberificazione delle nervature</p> <p>- Isole verdi (Green islands)</p>		<p>Maculatura a chiazze Foto: Hilda Gomez, USDA</p>

	<p>- Orecchio di coniglio</p>	 <p>Green islands su arancio dolce (<i>Citrus sinensis</i>). Ingiallimento quasi totale della pagina fogliare con la presenza di isole verdi</p> <p>Hilda Gomez, USDA</p> <p>Sintomi Frutti</p>   <p>- Inversione di colore e riduzione della pezzatura</p> <p>Nuovi germogli con foglie a "orecchio di coniglio". Foto: Xavier Isaac Funez Euceda (OIRSA) (SV)</p>   <p>Foto: Bové</p> <p>Foto: Hilda Gomez, USDA</p> <p>- Deformazione dei frutti, asimmetria dell'asse carpellare, semi abortiti e</p>  <p>Foto: T.R. Gottwald e S.M. Garsey</p>
--	-------------------------------	--

	<p>columella vascolare color arancione</p>	 <p>Foto: Catara V</p> <p>columella vascolare arancione</p>  <p>Florida Division of Plant Industry Archive, Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Bugwood.org</p>  <p>Foto: Lomez</p>  <p>Foto: Bové</p>
<p><u>Presenza di psille e rispettivi sintomi:</u></p>		
<p>L'ispezione per la presenza di psillidi vettori deve essere condotta tutto l'anno.</p> <p>I sintomi fogliari causati dall'attività trofica dell'insetto vettore sono maggiormente evidenti in primavera.</p>	<p>Le piante selezionate devono essere ispezionate per la presenza di tutti gli stadi di sviluppo degli insetti vettori (uova, forme giovanili e adulti). L'ispezione deve essere condotta a livello della chioma, con particolare attenzione alla pagina</p>	 <p>Infestazione di giovani e adulti di <i>D. citri</i> su foglie di lime. Evidenti le distorsioni fogliari e di presenza di melata. (https://gd.eppo.int/taxon/DIAACI/photos)</p>

<p>inferiore delle foglie.</p> <p>Sintomi legati all'attività trofica degli insetti vettori:</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>D. citri</i>: distorsioni fogliari e defoliazioni; aspetto a rosetta dei nuovi germogli. - <i>T. erytrae</i>: arricciamenti, distorsioni, clorosi fogliari e arresto della crescita; presenza di galle a coppa. Valutare anche la presenza di melata (e di conseguenti fumaggini) che potrebbe essere indicativa della presenza di entrambi i vettori. 		
	<p>Produzione di melata attraverso la formazione di tubuli cerosi da parte di giovani di <i>D. citri</i>. (Pitino M.)</p>	
		
	<p>Galle fogliari causate dall'attività trofica delle ninfe di <i>T. erytrae</i>. https://gd.eppo.int/taxon/TRIZER/photos</p>	<p>Infestazione precoce di <i>T. erytrae</i> su germoglio di una pianta di limone. https://gd.eppo.int/taxon/TRIZER/photos.</p>
		
<p>Sintomi di deformazione fogliare causati da <i>T. erytrae</i> su una pianta di limone. (https://gd.eppo.int/taxon/TRIZER/photos)</p>		


		
<p>Pianta di arancio infestata da <i>T. erythrae</i>. (https://gd.eppo.int/taxon/TRIZER/photos)</p>		

Trappolaggio/Trapping

Tipologia trappole	Quando	Dove
Trappole cromotattiche gialle da controllare ogni 14 giorni.	Gli insetti vettori non hanno diapausa e quindi gli adulti possono potenzialmente essere presenti tutto l'anno. Tuttavia, le trappole devono essere poste in almeno tre periodi, quando le popolazioni di psillidi raggiungono i livelli massimi con maggior probabilità: primavera, mezza estate e tarda estate-inizio autunno.	Ad altezza di uno-due metri lungo i bordi dell'agrumeto.

Campionamento/Sample taking

Cosa prelevare	Immagini	Come conservare
<u>Campioni vegetali per HLB:</u>		
<p>Piante sintomatiche Da rami di un anno prelevare 5-10 foglie sintomatiche dalla parte superiore di ogni quadrante della pianta.</p> <p>Piante asintomatiche Prelevare 10 foglie mature tutt' intorno alla chioma.</p>	Vedi sopra	<p>Usare sacchetti di dimensioni adeguate ad evitare schiacciamento, compressione dei campioni.</p> <p>Tenere i campioni lontano da fonti di calore.</p> <p>In attesa della consegna al laboratorio conservare in frigorifero a 4°C.</p>
<u>Individui di psillidi vettori:</u>		

<p>Adulti vivi rilevati sulle foglie delle piante ospiti possono essere campionati mediante retino e aspiratore entomologico.</p> <p>Le forme giovanili possono essere campionate raccogliendo le foglie su cui sono state rilevate e poi trasferendo gli esemplari in provette con alcool mediante pennellino.</p> <p>Gli adulti possono essere campionati anche con trappole cromotattiche.</p>	 <p>The image is a composite of three photographs illustrating sampling techniques. The top photo shows a white entomological net with a wooden handle. The middle photo shows a yellow sticky trap on a patch of green grass. The bottom photo shows a yellow sticky trap attached to a green leaf on a plant.</p>	<p>In provette con alcool al 70% a temperatura ambiente.</p>
---	--	--

PARTE B – INFORMAZIONI SULLO STATUS del PEST

Batteri HLB

Inquadramento normativo

EUROPEA

I batteri HLB sono microrganismi da Quarantena

- Regolamento UE 2016/2031

PM7/121(1): '*Candidatus Liberibacter africanus*', '*Candidatus Liberibacter americanus*' and '*Candidatus Liberibacter asiaticus*'

NAZIONALE D. Lgs 19 agosto 2005 n. 214

Inquadramento EPPO:

PM1/002(27): EPPO A1 and A2 Lists of pests recommended for regulation as quarantine pests (2018)

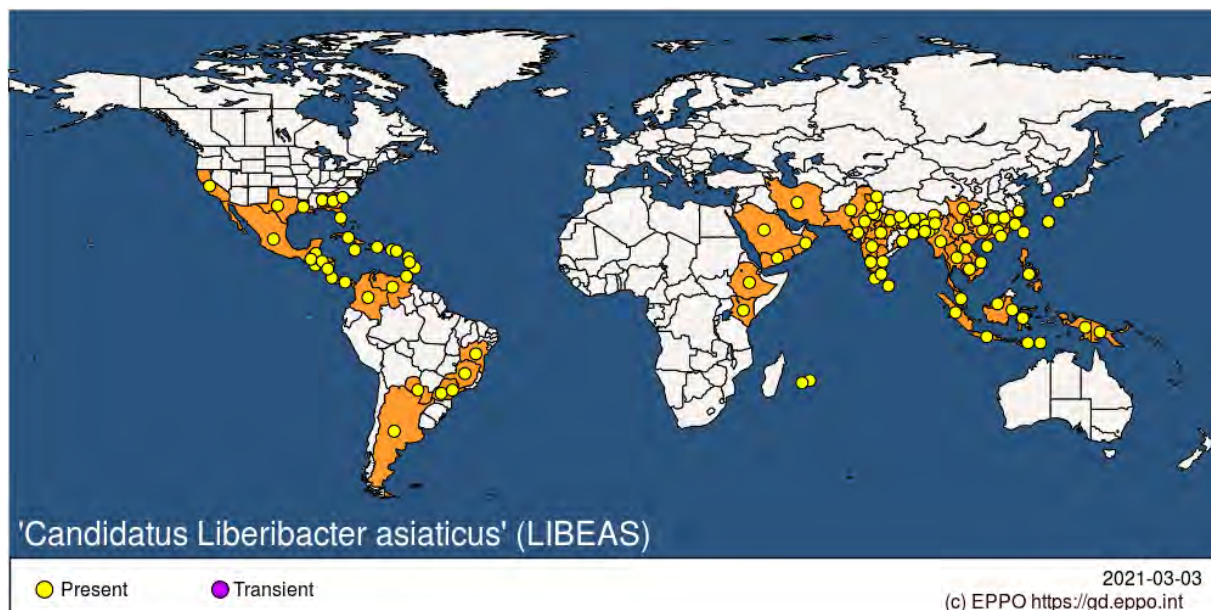
ALTRO: CABI <https://www.cabi.org/isc/datasheet/16567>

Origini: La malattia HLB è stata descritta per la prima volta nel sud della Cina nel XIX secolo. Per molti decenni è stata presente nelle maggiori aree produttive di agrumi in Asia ed Africa, più recentemente in America.

Distribuzione: La malattia HLB è presente in più di cinquanta paesi tra Asia, Africa, Oceania ed America. Ad oggi non sono state fatte segnalazioni nel bacino del mediterraneo.

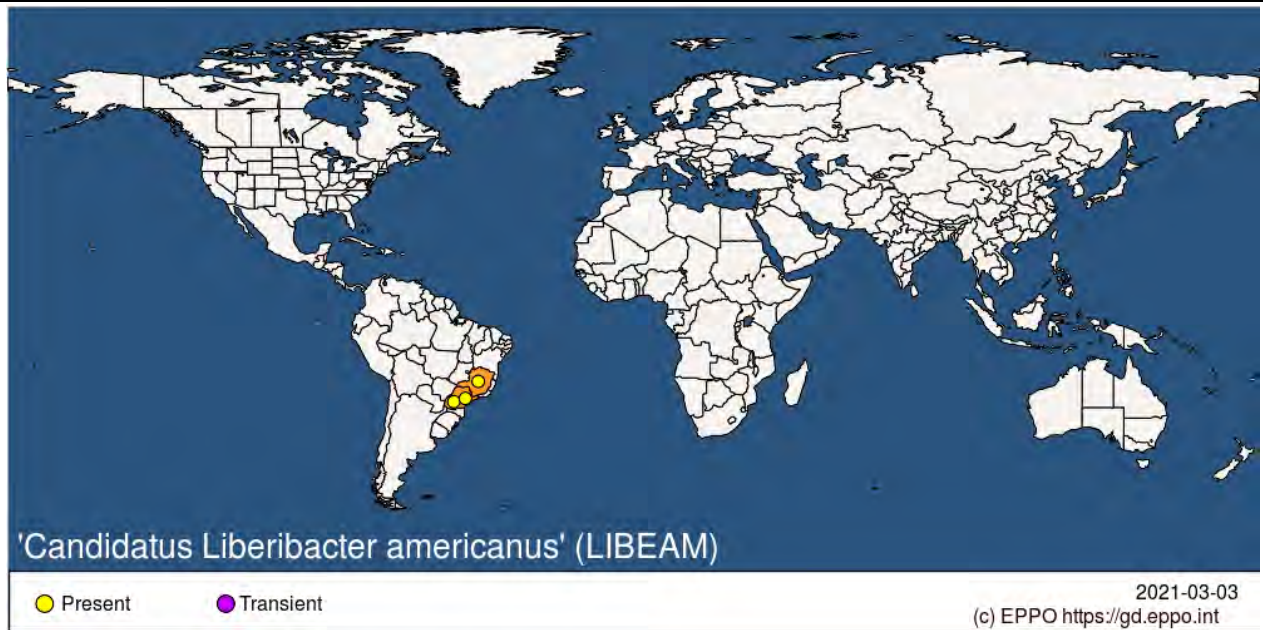
Mappa EPPO/CABI

LIBEAS



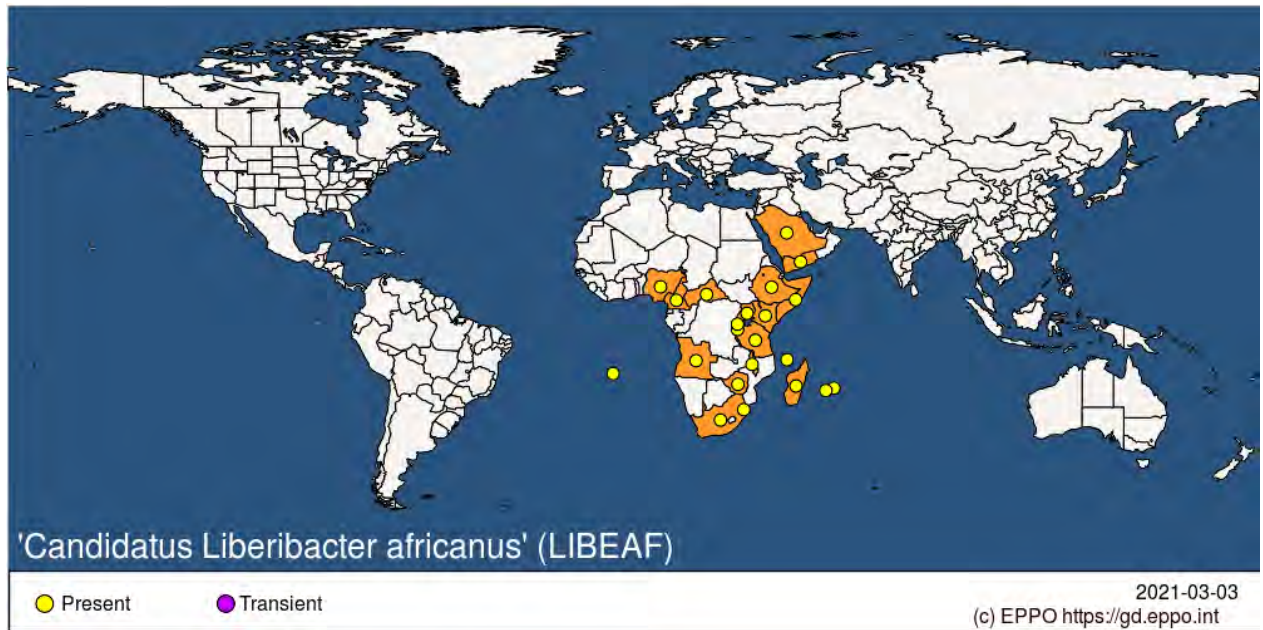
<https://gd.eppo.int/taxon/LIBEAS/distribution>

LIBEAM



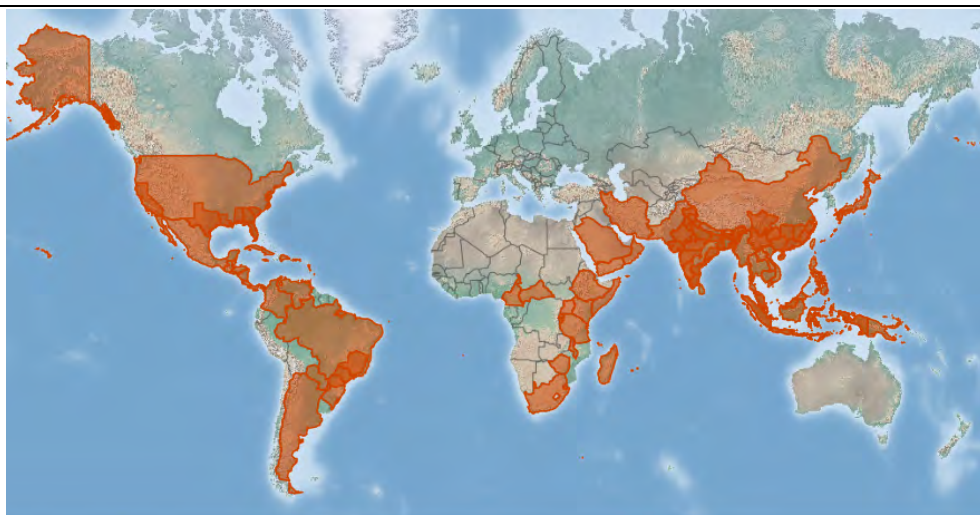
<https://gd.eppo.int/taxon/LIBEAM/distribution>

LIBEAF



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

Mappa CABI:



CABI, 2021. citrus huanglongbing (greening) disease. In: Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. <https://www.cabi.org/isc>

● CABI Summary Data

<https://www.cabi.org/isc/datasheet/16567#toDistributionMaps>

Presenza e/o segnalazioni in Italia:

Nessuna segnalazione.

Rischio di introduzione:

Indagini EUROPHYT – Scambi commerciali con Paesi Terzi

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

Diaphorina citri

Inquadramento normativo

Inquadramento EPPO:

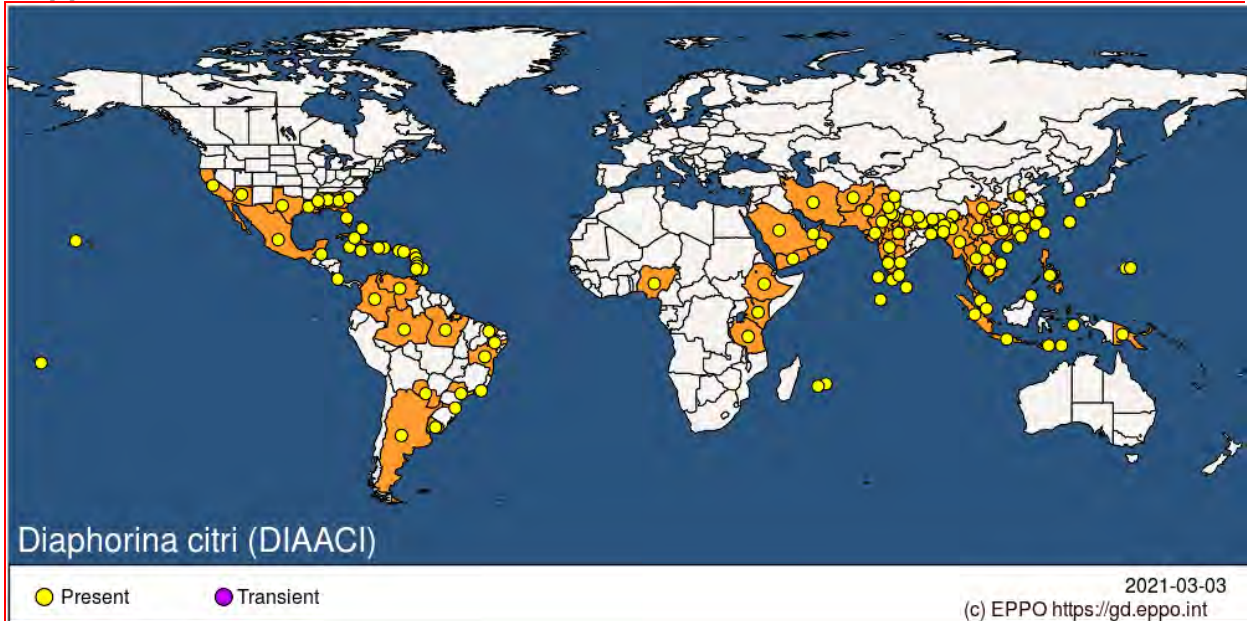
La specie è inserita nella lista A1 dell'EPPO.

Origini: Asia

Distribuzione: Asia: la specie è diffusa in tutto il continente asiatico, dall'Arabia Saudita al Giappone. Africa: la specie ha una diffusione ristretta a Kenya, Tanzania, Réunion e Mauritius. Oceania: la specie è segnalata sull'Isola di Guam, nell'arcipelago delle Marianne Settentrionali, sulle Isole Samoa e in Papua Nuova Guinea. Nord America: la specie è presente in Messico e negli U.S.A. Centro America e Caraibi: la specie è presente in Belize, Costa Rica, Porto Rico, Bahamas, Isole Cayman, Cuba, Giamaica, Rep. Dominicana, Guadalupe, Isole Vergini, Haiti, Martinica e Dominica. Sud America: la specie è presente in Brasile, Colombia, Paraguay, Uruguay e Venezuela e in una ristretta area dell'Argentina.

Non vi sono ad oggi segnalazioni nel Bacino Mediterraneo.

Mappa EPPO/CABI



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

Presenza e/o segnalazioni in Italia ad oggi: nessuna

Indagini EUROPHYT – Scambi commerciali con Paesi Terzi

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

Country of Export	YEAR	Object	Plant Species No. of Interceptions
Vietnam	2016	Other living plants: fruits and vegetables	Murraya koenigii (1)

Trioza erytreae

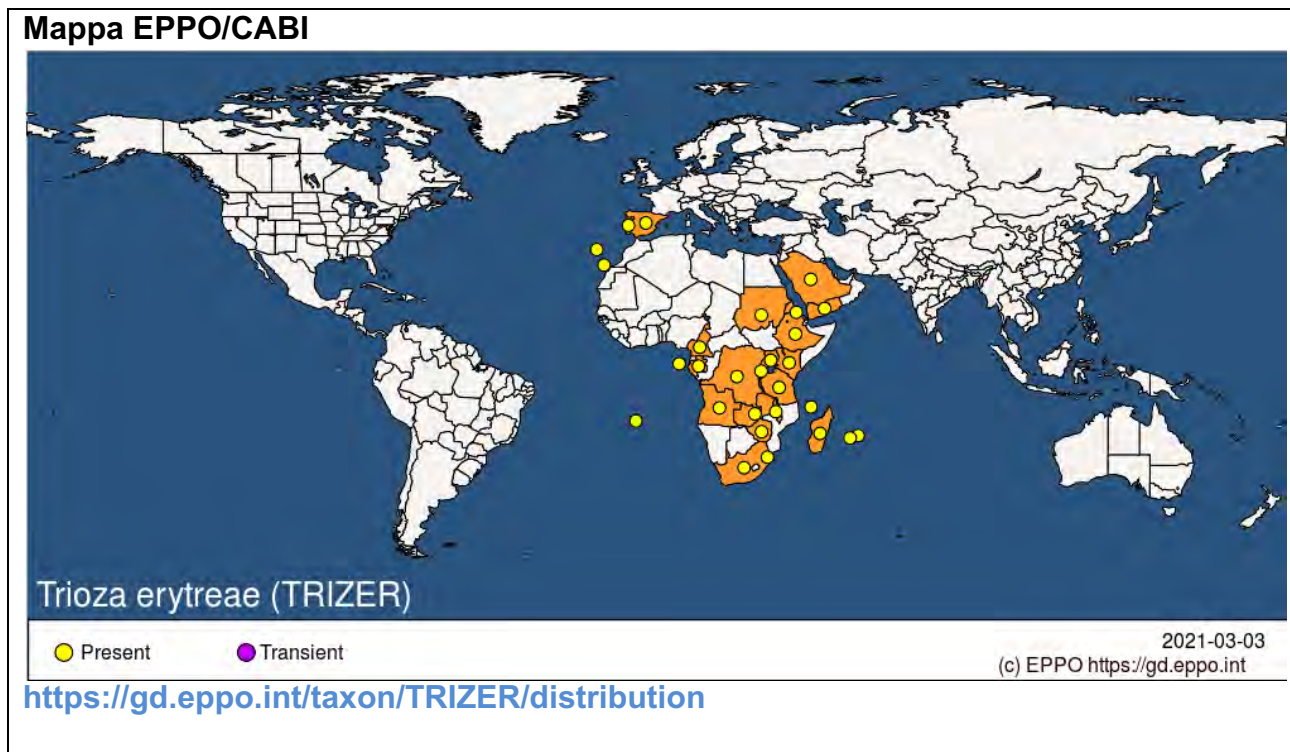
Inquadramento normativo

Inquadramento EPPO:

La specie è inserita nella lista A2 dell'EPPO.

Origini: Africa

Distribuzione: Africa: la specie è diffusa in gran parte continente, in particolare nei Paesi meridionali, centrali e nord-orientali. Asia: la specie è diffusa in Arabia Saudita e Yemen. Europa e Bacino Mediterraneo: la specie è stata segnalata per la prima volta sull'Isola di Madeira (1994). In seguito si è diffusa anche nel Portogallo continentale (segnalazione a Porto nel 2015, Lisbona 2018), sulle Isole Canarie (Tenerife, La Gomera, La Palma and El Hierro) e nella Spagna continentale (segnalazione in Galizia nel 2014). Attualmente la presenza della specie in Spagna e Portogallo è oggetto di interventi di eradicazione ed è limitata a zone costiere nel nord dei due Paesi, lontano da agrumeti in produzione e vivai.



Presenza e/o segnalazioni in Italia ad oggi: nessuna

Indagini EUROPHYT – Scambi commerciali con Paesi Terzi

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

Country of Export	year	Object	Plant Species (No. Of Interceptions)
Uganda	2017	Other living plants: fruits and vegetables	Murraya koenigii (2)
Uganda	2016	Other living plants: fruits and vegetables	Murraya koenigii (6)

PARTE C – DIAGNOSI

Normativa di riferimento:

EUROPEA: -

NAZIONALE: -

Protocolli standard di riferimento

PM7 EPPO:

- PM7/121(1) '*Candidatus Liberibacter africanus*', '*Candidatus Liberibacter americanus*' and '*Candidatus Liberibacter asiaticus*'. 2014
- PM 7/52 (1) *Diaphorina citri*
- PM 7/57 (1) *Trioza erytreae*

Altro:

NAPPO DIAGNOSTIC PROTOCOL DP 02: Citrus Huanglongbing

CABI <https://www.cabi.org/isc/datasheet/16567#todiagnosis>

Cellier, G., Redondo, C., Cubero, J., Roselló, M., de Andrade, E., Cruz, L., ... & Giovani, B. (2020). Comparison of the performance of the main real-time and conventional PCR detection tests for '*Candidatus Liberibacter*' spp., plant pathogenic bacteria causing the Huanglongbing disease in Citrus spp. *European Journal of Plant Pathology*, 157(4), 919-941.

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

- **(IV) Morphological identification** (stereoscopio sia trappole che foglie per *Diaphorina citri*, *Trioza erytreae*)
- **(V) Microscopically identification** (per *Diaphorina citri*, *Trioza erytreae* su singoli preparati degli individui)
- **(XV) PCR**
- **(XIX) PCR+Sequencing** (va indicato quando si fa insieme la PCR e si invia al sequenziamento)
- **(XX) Real Time - PCR** (per *Candidatus Liberibacter* spp)

Matrice

Diagnosi di HLB:

I test di laboratorio per verificare la presenza dei batteri HLB devono essere effettuati sia sui campioni di citrus che sui vettori

Matrici vegetali: foglie (nervature)

Insetti vettori: individui raccolti vivi e conservati in alcool (e non individui catturati con le trappole cromotattiche).

Identificazione di psillidi vettori:

L'identificazione delle specie di psillidi vettori di HLB viene eseguita su individui adulti e eventualmente stadi giovanili. L'identificazione è eseguita preferibilmente su individui adulti catturati freschi (non da trappole cromotattiche) i cui caratteri distintivi sono più evidenti.

Tipologia di test

Diagnosi di HLB (cod IO 05 XV, XIX, XX):

Non essendo coltivabile *in vitro* la diagnosi è essenzialmente molecolare con real-time PCR e/o end-point PCR; la prima consigliata per la maggiore sensibilità e minor possibilità di contaminazione da DNA amplificato.

Diagnosi su matrici vegetali: il test viene effettuato sul DNA totale estratto dalla matrice vegetale (0.5-1 gr di nervature fogliari) con i metodi indicati in EPPO PM7/121 (1) seguendo il diagramma di flusso riportato:

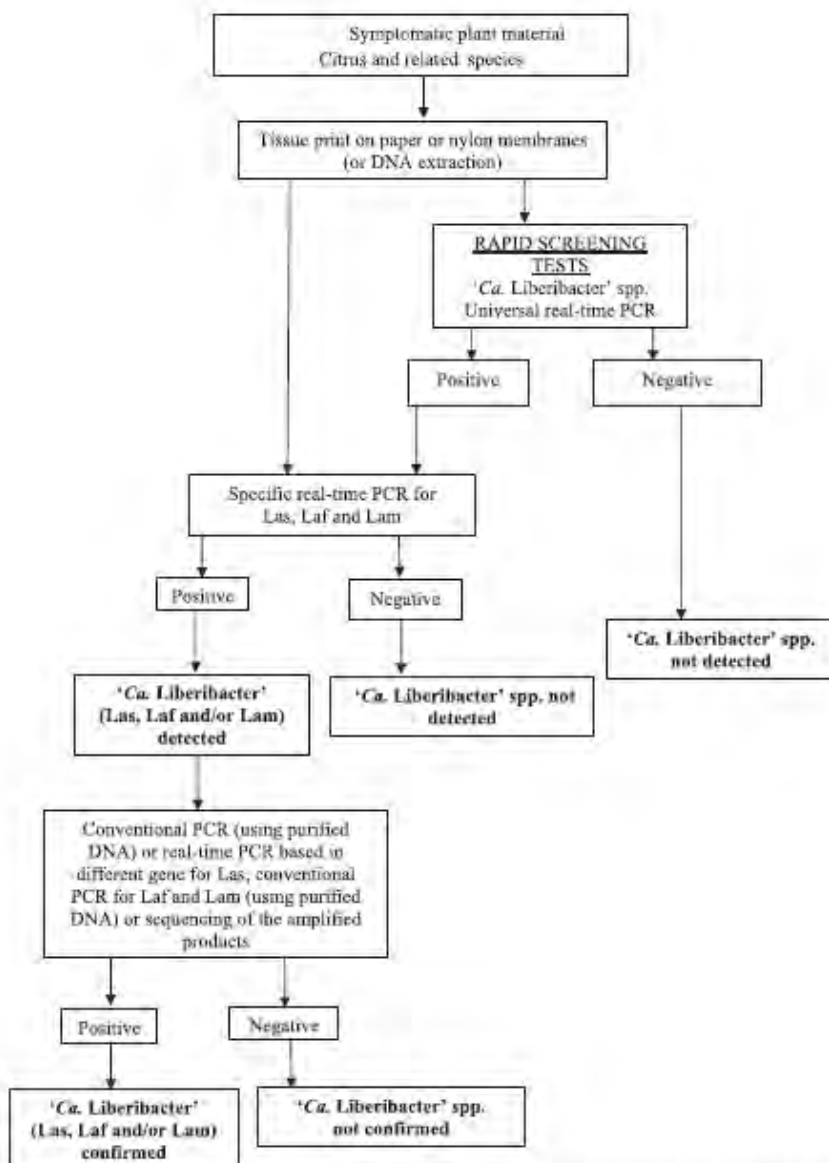
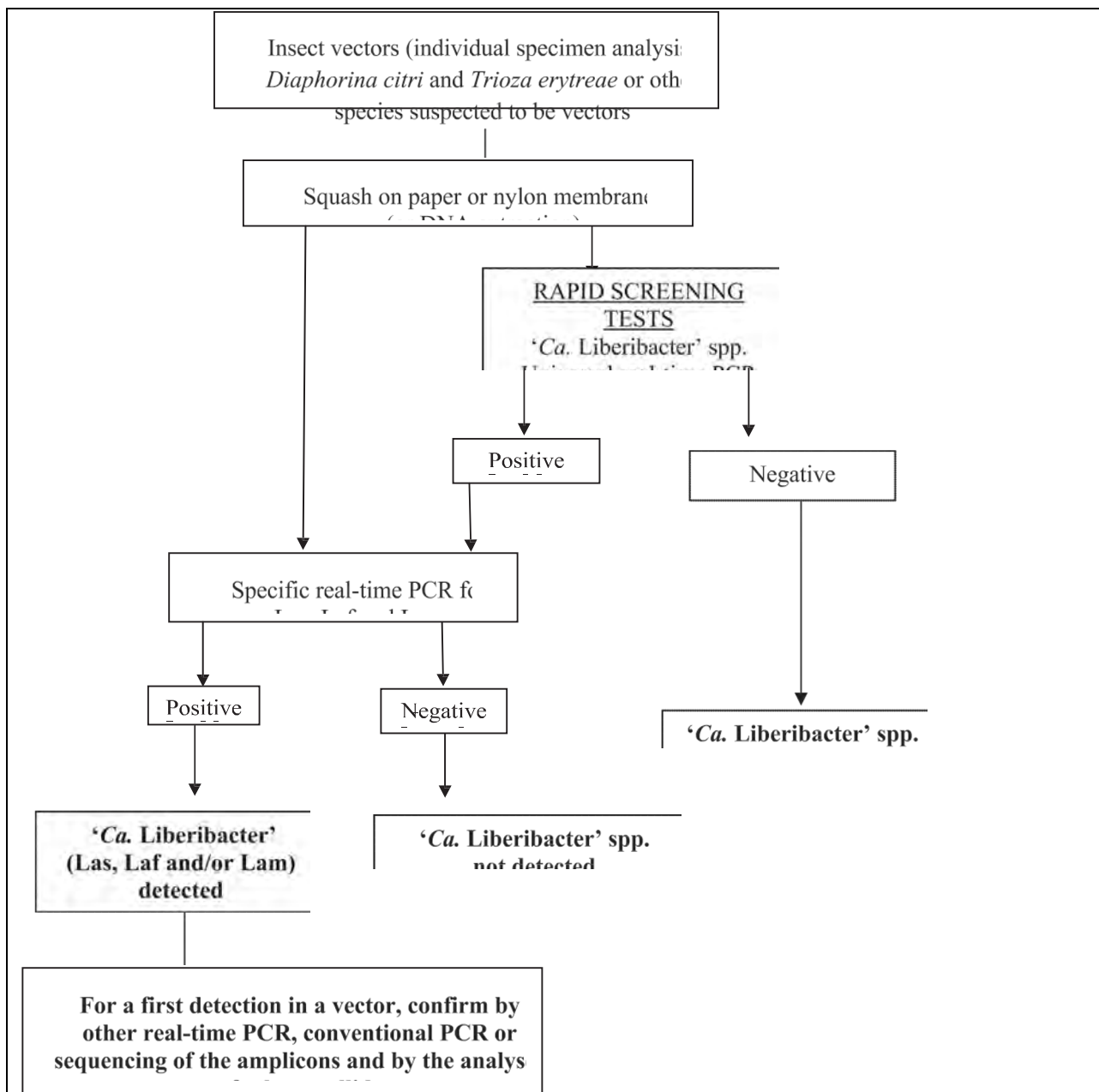


Fig. 1 Flow diagram for the detection of 'Ca. Liberibacter' spp. in plant material. Laf = 'Ca. Liberibacter africanus', Lam = 'Ca. Liberibacter americanus' and Las = 'Ca. Liberibacter asiaticus'.

Diagnosi su insetti vettori (cod IO 05 XV, XX):

il test viene effettuato sul DNA totale estratto da singoli individui adulti di psillidi vettori con i metodi indicati in EPPO PM7/121 (1) seguendo il diagramma di flusso riportato:



Identificazione di psillidi vettori (cod IO 05 IV, V, XV, XIX):

I protocolli EPPO prevedono che l'identificazione di entrambi gli insetti vettori venga effettuata su base morfologica. La conferma può essere effettuata con identificazione molecolare amplificando regioni note del Cytochrome c oxidase I (COX1) con conseguente sequenziamento 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/>).

Riferimenti Bibliografici

Cellier, G., Redondo, C., Cubero, J., Roselló, M., de Andrade, E., Cruz, L., ... & Giovani, B. (2020). Comparison of the performance of the main real-time and conventional PCR detection tests for 'Candidatus Liberibacter' spp., plant pathogenic bacteria causing the Huanglongbing disease in Citrus spp. *European Journal of Plant Pathology*, 157(4), 919-941.

Cocuzza GEM, Alberto U, Hernández-Suárez E, Siverio F, Di Silvestro S, Tena A, and Carmelo R, 2017. A review on *Trioza erytraeae* (African citrus psyllid), now in mainland Europe, and its potential risk as vector of Huanglongbing (HLB) in citrus. *Journal of Pest Science*, 90(1), 1-17.

EFSA (European Food Safety Authority), Parnell, S., Camilleri, M., Diakaki, M., Schrader, G., & Vos, S., 2019. Pest survey card on Huanglongbing and its vectors. *EFSA Supporting Publications*, 16(4), 1574E.

EFSA PLH Panel (EFSA Panel on Plant Health), Bragard C, Dehnen-Schmutz K, Di Serio F, Gonthier P, Jacques M-A, Jaques Miret JA, Justesen AF, Magnusson CS, Milonas P, Navas-Cortes JA, Parnell S, Potting R, Reignault PL, Thulke H-H, Van der Werf W, Civera AV, Yuen J, Zappalà L, Kertesz V, Streissl F and MacLeod A, 2021. Scientific Opinion on the pest categorisation of *Diaphorina citri*. *EFSA Journal* 2021;19(1):6357, 37 pp.

EPPO PM 7/121 (1), 2014. '*Candidatus Liberibacter africanus*', '*Candidatus Liberibacter americanus*' and '*Candidatus Liberibacter asiaticus*'. *Bulletin OEPP/EPPO* 44(3), 376–389 e bibliografia citata nel documento.

EPPO PM 7/52 (1), 2005. *Diaphorina citri*. *Bulletin OEPP/EPPO* 35: 331–333 e bibliografia citata nel documento.

EPPO PM 7/57 (1), 2005. *Trioza erytraeae*. *Bulletin OEPP/EPPO* 35: 271–273 e bibliografia citata nel documento.

EPPO PM 9/27 (1), 2020. '*Candidatus Liberibacter*' species that are causal agents of Huanglongbing disease of citrus and their vectors: procedures for official control. *OEPP/EPPO* 50: 122–141 e bibliografia citata nel documento.

Haapalainen, 2014. Biology and epidemics of *Candidatus Liberibacter* species, psyllid-transmitted plant-pathogenic bacteria. *Annals of Applied Biology* 165: 172-198.

Autori:

Vincenza Ilardi per i batteri HLB; Sabrina Bertin per gli psillidi vettori. GdL Monitoraggio

Cofinanziato - UE