



## La macchia nera degli agrumi (Citrus Black Spot)

*Phyllosticta citricarpa* (McAlpine - Van der Aa)

*Guignardia citricarpa* Kiely



A cura di Chiara Salemi<sup>1</sup>, Dalia Del Nista<sup>2</sup>, Domenico Rizzo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>. Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali, Università di Pisa, Pisa

<sup>2</sup>. Servizio Fitosanitario della Regione Toscana, c/o Interporto Toscano "Amerigo Vespucci", Collesalveti, Livorno, Italia

<sup>3</sup>. Laboratorio di diagnostica fitopatologica e biologia molecolare, Servizio Fitosanitario della Regione Toscana, Pistoia, Italia

### INTRODUZIONE

La macchia nera degli agrumi (Citrus Black Spot) è una malattia di rilevante importanza economica per l'agrumicoltura mondiale in quanto determina sia una diminuzione della qualità della produzione che della quantità dei frutti che non possono più essere venduti sul mercato fresco. In particolar modo, nelle annate favorevoli allo sviluppo della malattia, si assiste ad una riduzione notevole della resa produttiva a causa della cascola precoce dei frutti.

Agente responsabile della malattia è *Phyllosticta citricarpa* (McAlpine - Van der Aa) – forma sessuata: *Guignardia citricarpa* Kiely – un fungo ascomicete, patogeno per i vegetali del genere *Citrus*.

Rinvenuto per la prima volta nel 1895 in Australia su piantagioni di arancio dolce, *Phyllosticta citricarpa* è ormai presente in numerose zone di produzione agrumicola come Asia, Sud America, America Centrale, Africa, dove provoca notevoli perdite economiche. Fortunatamente, la sua presenza non è ancora stata registrata in Europa.

Ai sensi dell'art. 6 del Reg. UE 2016/2031 e successivo Reg. 2019/1072, la *P. citricarpa* rientra tra gli organismi nocivi da quarantena prioritari sulla base del potenziale impatto economico, ambientale o sociale che potrebbe determinare sul territorio dell'Unione Europea.

## PIANTE OSPITI E CICLO BIOLOGICO

Le principali piante ospiti della *P. citricarpa* appartengono al genere *Citrus* tra cui: *C. limon* (limone), *C. paradisi* (pompelmo), *C. maxima* (pomelo), *C. reticulata* (mandarino) e *C. sinensis* (arancio dolce). Non sono invece suscettibili alla malattia *C. aurantium* (arancio amaro) e *C. latifolia* (lime).

Il patogeno presenta due tipologie di stadi riproduttivi: uno di tipo sessuale rappresentato dagli pseudotecii, all'interno dei quali si formano le ascospore della *Guignardia citricarpa* e uno stadio asessuale caratterizzato dai picnidi, che producono i conidi della *Phyllosticta citricarpa*.

Le parti della pianta interessate dall'infezione sono le foglie, i frutti e i rami, sui quali compaiono delle piccole macchie infossate, circolari, scure e necrotiche, contenenti i picnidi del fungo. Le foglie infette, cadute a terra, costituiscono il substrato per lo sviluppo e la maturazione degli pseudotecii, che rilasciano le ascospore. Queste ultime, trasportate dal vento, perpetuano l'infezione, depositandosi sui frutti o sulle foglie, dove germinano formando un appressorio che penetra nei tessuti della pianta ospite. Avvenuta l'infezione, il fungo può rimanere quiescente e svilupparsi solo successivamente; pertanto i frutti asintomatici al momento della raccolta possono sviluppare i sintomi della malattia durante il trasporto e lo stoccaggio.

Dal punto di vista epidemiologico, lo sviluppo della malattia è influenzato da diversi fattori: la disponibilità dell'inoculo, le condizioni ambientali (temperatura, precipitazioni), la fase fenologica e l'età della pianta (quelle più vecchie sono più suscettibili all'infezione) (Kotzé, 2000).

## SINTOMATOLOGIA

I sintomi che si sviluppano sui frutti sono diversi in relazione alla temperatura e alla maturità dei frutti.

Il tipico sintomo della malattia comunemente osservato è la macchia nera (*hard spot*), lesione di forma più o meno circolare, leggermente infossata, di 2-5 mm di diametro e di color giallastro con margine nero al cui centro sono presenti (anche se non sempre) le fruttificazioni picnidiche del fungo. A stadi avanzati di sviluppo del sintomo, il centro delle lesioni appare totalmente necrotizzato (Kotzé, 2000) (Fig. 1).

Molto frequenti sono anche le "macchie a lentiggine" (*freckle spots*), piccole e numerose lesioni rossastre o incolori di 1-3 mm di diametro, rotondeggianti con il bordo rosso scuro o marrone, quasi sempre prive di picnidi (Kotzé, 2000) (Fig. 2). Le singole lesioni possono unirsi formando lesioni più grandi che possono trasformarsi, soprattutto durante lo stoccaggio della frutta, nelle cosiddette macchie virulente (*virulent spots*). Queste ultime sono lesioni di forma irregolare, di colore marrone o nero, che crescono rapidamente arrivando a ricoprire i due terzi della superficie del frutto. Rappresentano il sintomo più dannoso in quanto si estendono profondamente all'interno dell'epicarpo fino a raggiungere la polpa del frutto provocandone una cascola prematura e gravi perdite post raccolta (Kotzé, 1981) (Fig. 3).

Ulteriori sintomi riportati in diversi articoli scientifici sono: la falsa melanosi, che si osserva sui frutti verdi e che consiste in piccole macchie nere con un diametro inferiore ad 1 mm

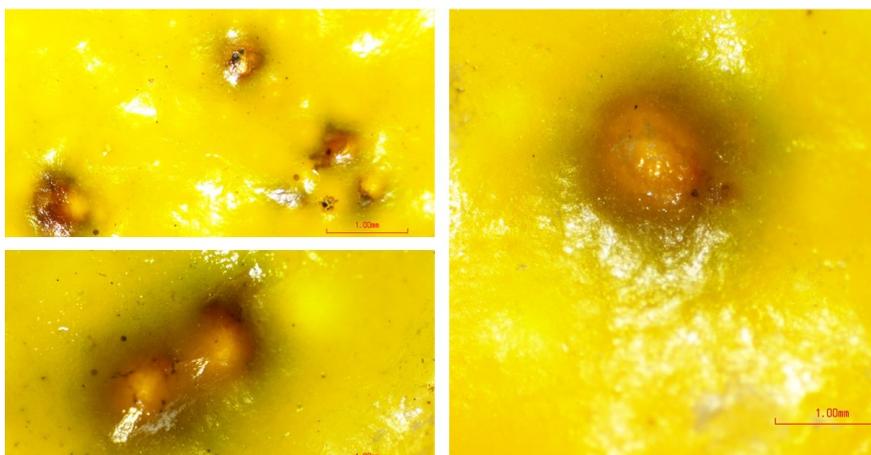
(Fig. 4B); le macchie screpolate (*cracked spots*), lesioni superficiali, leggermente rialzate, di dimensioni variabili, margini irregolari, superficie screpolata e colorazione dal marrone al nero; i picnidi non sono presenti all'interno di queste lesioni (FUNDECITRUS, 2005) (Fig. 4A).

Bisogna sottolineare che sullo stesso frutto possono essere osservati più di uno dei sintomi appena descritti o loro stadi di sviluppo intermedi.

I sintomi si manifestano anche su foglie e rami di piante di *C. limon* mentre è rara la loro comparsa su altre specie di agrumi. Consistono in piccole macchie necrotiche, depresse circolari, con centro grigio e circondate da un anello bruno scuro e un alone giallo (quest'ultimo non sempre evidente) (Kotzé, 2000) (Fig. 5).



**Fig. 1-** In (a) *Citrus sinensis* importate dal Brasile con evidenti sintomi di *P. citricarpa*; in (b), (c) e (d) stadi di sviluppo del sintomo “*hard spots*” (Foto del Servizio Fitosanitario della Regione Toscana).



**Fig. 2 -** *Freckle spots* su frutti di *Citrus limon* importati dal Sud Africa. Le lesioni sono leggermente infossate al centro e prive di picnidi. (Foto del Servizio Fitosanitario della Regione Toscana)



**Fig. 3** - *Virulent spots* su frutti di *Citrus limon* importati dall'Argentina  
(Foto del Servizio Fitosanitario della Regione Toscana)



**Fig. 4** - In (a) sintomi di falsa melanosi e in (b) “*cracked spots*” su frutti di *Citrus sinensis*  
(<https://idtools.org/id/citrus/diseases/factsheet.php?name=Citrus%20Black%20Spot>)



**Fig. 5**- In (a) sintomi della macchia nera degli agrumi su foglie (A) e ramo (B) di *Citrus limon* (<https://www.researchgate.net/publication/335756002>);

Photos courtesy M. Truter, Plant Protection Research Institute, Agricultural Research Council, Pretoria, South Africa.

## DIAGNOSI

La diagnosi di *P. citricarpa* in pieno campo e presso i punti d'ingresso dell'Unione Europea può essere effettuata utilizzando approcci che differiscono in termini di tempistica, efficienza e sensibilità.

In alcuni casi i frutti di agrumi importati in Italia manifestano evidenti sintomi dell'infezione ed anche un solo esame di natura visiva basterebbe per confermare la presenza del patogeno.

Tuttavia, considerato che la sintomatologia è variabile e simile a quella provocata da altri patogeni degli agrumi (come *P. citriasiatica*, *P. paracitricarpa*, *P. citrichinaensis*, *P. citrimaxim*, *Diaporthe citri*, *Alternaria alternata* ecc.), si ricorre ad una diagnosi più approfondita ricorrendo a isolamento micologico e metodi biomolecolari (PCR end-point, real-time PCR e LAMP). La scelta del tipo di saggio dipende dal contesto in cui si opera: se il controllo fitosanitario è effettuato su materiale importato è determinante utilizzare metodi diagnostici più rapidi ma altamente sensibili e specifici (real-time PCR e LAMP) mentre se si tratta di indagini territoriali si può ricorrere a metodi meno rapidi e meno costosi (come l'isolamento micologico).

Gli standard diagnostici internazionali adottati per la *P. citricarpa* (PM7/17 EPPO (2) e ISPM 27 DP: 5 FAO) rappresentano delle linee guida molto stringenti e versatili ai fini di una corretta identificazione del patogeno.

## CONCLUSIONI

Nei paesi in cui è presente la *Phyllosticta citricarpa* (come Brasile, Uruguay, Sud Africa, Argentina, Cina) le perdite in termini di qualità e resa delle produzioni agrumicole sono considerevoli, pertanto è molto importante prevenire il rischio d'introduzione in aree ancora indenni.

Ai sensi del Regolamento di esecuzione (UE) 2019/2072, Allegato VI, punto 11, l'importazione nell'Unione Europea di piante di *Citrus* da paesi terzi è vietata, pertanto, per evitare l'introduzione di *Phyllosticta citricarpa*, il controllo fitosanitario riguarda principalmente l'importazione dei frutti di agrumi. In Toscana l'attività si concentra quindi presso il punto di controllo frontaliero del porto di Livorno, tramite il quale vengono importate (soprattutto nel periodo compreso tra maggio e ottobre) notevoli quantità di frutti di agrumi dalle aree geografiche dove la malattia è presente. Tuttavia, è considerato molto basso il rischio che il patogeno riesca a diffondersi a partire dal frutto anche perché i conidi fungini hanno un potenziale riproduttivo molto basso (Schutte et al., 2014). Non ci sono al momento studi scientifici che dimostrano quest'ultima ipotesi.

Essendo molto difficile eradicare e contenere la malattia che minaccerebbe gravemente il nostro patrimonio agrumicolo e ambientale, e considerato anche che negli ultimi anni le intercettazioni del patogeno su materiale importato da paesi terzi sono state molto frequenti, la prevenzione del rischio/pericolo d'introduzione è, al momento, l'opzione più efficace.

## BIBLIOGRAFIA

- EFSA (2014) Scientific Opinion on the risk of *Phyllosticta citricarpa* (*Guignardia citricarpa*) for the EU territory with identification and evaluation of risk reduction options. EFSA Journal 12(2), 3557, 243 pp.;
- EPPO (2020) *Phyllosticta citricarpa*. EPPO datasheets on pests recommended for regulation. Available online. <https://gd.eppo.int>;
- FUNDECITRUS. (2005). Manual de Pinta Preta. Brazil, Araraquara: Fundo Paulista de Defesa da Citricultura. 10 pp. (Boletim Técnico);
- Guarnaccia, V., Gehrman, T., Silva-Junior, G.J., Fourie, P.H., Haridas, S., Vu, D., Spatafora, J., Martin, F.M., Robert, V., Grigoriev, I.V., Groenewald, J.Z. and Crous, P.W. (2019). “*Phyllosticta citricarpa* and sister species of global importance to *Citrus*”. Molecular Plant Pathology, 20: 1619-1635. doi:10.1111/mpp.12861;
- Guarnaccia, V., Groenewald, J.Z., H. Li, *et al.* (2017). “First report of *Phyllosticta citricarpa* and description of two new species, *P. paracapitalensis* and *P. paracitricarpa*, from citrus in Europe”. Studies in Mycology, 87, pp. 161-185.
- Kotzé, J.M. (1981). Epidemiology and control of citrus black spot in South Africa. Plant Disease, 65: 945–950;
- OEPP/EPPO. (2003). Diagnostic protocols for regulated pests: *Guignardia citricarpa*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 33: 271–280;
- Schutte G.C, Kotzé C & Korf HJG (2014) Influence of sunlight exposure on fertility of *Phyllosticta citricarpa* pycnidia in citrus black spot lesions on grapefruit and Valencia orange rinds. SA Fruit Journal, April, 54-57;
- USDA APHIS (United States Department of Agriculture Animal and Plant Health Inspection Service) (2010) Risk assessment of Citrus spp. fruit as a pathway for the introduction of *Guignardia citricarpa* Kiely, the organism that causes Citrus Black Spot disease. Center for Plant Health Science and Technology, Plant Epidemiology and Risk Analysis Laboratory, Raleigh, NC, USA;