

Servizio fitosanitario nazionale

DOCUMENTI TECNICI UFFICIALI

Documento n. 48

**SCHEMA TECNICA PER
INDAGINI SULL'ORGANISMO NOCIVO:**

Bactrocera zonata

REV.	DESCRIZIONE REVISIONE	COMPILAZIONE	APPROVAZIONE	DATA DI ADOZIONE	FIRMA
0	Revisione 0	GDL per il Programma di indagine sugli organismi nocivi delle piante	CFN 18-19/09/2023	02/10/2023	

Servizio fitosanitario nazionale

Scheda tecnica ufficiale n.48

Schede tecniche organismi nocivi

Scheda tecnica per indagini su: *Bactrocera zonata*

Pag. 2 di 22

Indice

Premessa	3
1. Informazioni Generali	3
1.1 Tassonomia e inquadramento	3
1.2 Normativa vigente	4
1.3 Distribuzione geografica	5
1.3.1 Presenza in Italia	5
2. Aspetti biologici dell'organismo	6
2.1 Morfologia e biologia dell'organismo nocivo	6
2.2 Sintomi/segni	8
2.3 Piante ospiti (ospiti principali/minori)	8
3. Siti di maggiore rischio	9
4. Indagine/survey	10
4.1 Osservazione visiva	10
4.2 Campionamento	11
4.3 Indagine con trappole	12
5. Diagnosi	15
5.1 Campione/Matrice	15
5.2 Test per l'identificazione	15
Bibliografia	16
Allegato 1	18

Premessa

La scheda tecnica di indagine per un organismo nocivo o gruppo di organismi nocivi affini riporta le informazioni sull'inquadramento tassonomico e normativo, la diffusione a livello mondiale e nazionale, gli aspetti di carattere generale sul ciclo biologico, le istruzioni su come e quando condurre rilievi visivi e campionamenti sulla base di ampie illustrazioni dei sintomi o danni causati sulle specie ospiti e, nel caso di insetti, le modalità di indagine attraverso l'uso di trappole. La scheda riporta anche le informazioni sulle metodologie diagnostiche per l'identificazione del singolo organismo nocivo o gruppo affine.

La scheda tecnica di indagine tiene conto dei **regolamenti comunitari** e/o **decreti nazionali**, dell'esperienza dei Servizi Fitosanitari Regionali (SFR) nel controllo del territorio, degli standard internazionali (**EPPO**, ISPM etc..). La scheda è uno strumento funzionale al riconoscimento dell'organismo nocivo in dotazione al personale tecnico impegnato nell'esecuzione delle indagini (Ispettori fitosanitari, Agenti fitosanitari, Assistenti fitosanitari, Tecnici rilevatori)

La scheda tecnica di indagine viene elaborata da un gruppo di lavoro di esperti (**SFR** e **CREA-DC**) per l'organismo nocivo considerato, con l'eventuale coinvolgimento di altri esperti di Enti di Ricerca e Università. La scheda di indagine viene approvata dal **Comitato Fitosanitario Nazionale** (CFN) e revisionata periodicamente per gli aggiornamenti normativi, distribuzione geografica e procedure di indagine.

1. Informazioni Generali

1.1 Tassonomia e inquadramento

Nome scientifico: *Bactrocera zonata* (Saunders)

Sinonimi: *Dacus zonatus* (Saunders); *Dasyneura zonata* (Saunders); *Rivellia persicae* (Bigot); *Strumenta zonata* (Saunders).

Nomi comuni: guava fruit fly; peach fruit fly

Codice EPPO: DACUZO

Posizione tassonomica:

Phylum: Arthropoda (1ARTHYP)

Classe: Insecta (1INSEC)

Ordine: Diptera (1DIPTO)

Famiglia: Tephritidae (1TEPHF)

Genere: *Bactrocera* (1BCTRG)

Specie: *Bactrocera zonata* (DACUZO)

Categorizzazione (se rilevante)

EU: Quarantine pest (Annex II A- Reg. UE 2019/1702)

EPPO: List A2

1.2 Normativa vigente

EUROPEA:

- **Regolamento (UE) 2016/2031** del Parlamento europeo e del Consiglio del 26 ottobre 2016 relativo alle misure di protezione contro gli organismi nocivi per le piante, che modifica i regolamenti (UE) n. 228/2013, (UE) n. 652/2014 e (UE) n. 1143/2014 del Parlamento europeo e del Consiglio e abroga le direttive 69/464/CEE, 74/647/CEE, 93/85/CEE, 98/57/CE, 2000/29/CE, 2006/91/CE e 2007/33/CE del Consiglio;
- **Regolamento (UE) 2017/625** del Parlamento europeo e del Consiglio, del 15 marzo 2017, relativo ai controlli ufficiali e alle altre attività ufficiali effettuati per garantire l'applicazione della legislazione sugli alimenti e sui mangimi, delle norme sulla salute e sul benessere degli animali, sulla sanità delle piante nonché sui prodotti fitosanitari, recante modifica dei regolamenti (CE) n. 999/2001, (CE) n. 396/2005, (CE) n. 1069/2009, (CE) n. 1107/2009, (UE) n. 1151/2012, (UE) n. 652/2014, (UE) 2016/429 e (UE) 2016/2031 del Parlamento europeo e del Consiglio, dei regolamenti (CE) n. 1/2005 e (CE) n. 1099/2009 del Consiglio e delle direttive 98/58/CE, 1999/74/CE, 2007/43/CE, 2008/119/CE e 2008/120/CE del Consiglio, e che abroga i regolamenti (CE) n. 854/2004 e (CE) n. 882/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio, le direttive 89/608/CEE, 89/662/CEE, 90/425/CEE, 91/496/CEE, 96/23/CE, 96/93/CE e 97/78/CE del Consiglio e la decisione 92/438/CEE del Consiglio (regolamento sui controlli ufficiali);
- **Regolamento delegato (UE) 2019/1702** della Commissione del 10 agosto 2019 che integra il regolamento (UE) 2016/2031 del Parlamento europeo e del Consiglio stabilendo l'elenco degli organismi nocivi prioritari;
- **Regolamento di esecuzione (UE) 2019/2072** della Commissione, del 28 novembre 2019, che stabilisce condizioni uniformi per l'attuazione del regolamento (UE) 2016/2031 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda le misure di protezione contro gli organismi nocivi per le piante e che abroga il regolamento (CE) n. 690/2008 della Commissione e modifica il regolamento di esecuzione (UE) 2018/2019 della Commissione e ss.mm.ii;

NAZIONALE:

- **Decreto Legislativo 2 febbraio 2021, n. 19.** "Norme per la protezione delle piante dagli organismi nocivi in attuazione dell'articolo 11 della legge 4 ottobre 2019, n. 117, per l'adeguamento della normativa nazionale alle disposizioni del regolamento (UE) 2016/2031

e del regolamento (UE) 2017/625" (GU Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana -Serie generale n.48 del 26 febbraio 2021);

- Contingency plan approvato da Comitato Fitosanitario Nazionale nella seduta del 18 febbraio 2019 – **in revisione**

1.3 Distribuzione geografica

L'areale d'origine di *Bactrocera zonata* è il Sud-Est asiatico.

Area EPPO: Presente EPPO Reporting Service no. 02 - 2023 Num. article: 2023/038

Europa: transiente, ritrovamenti isolati in trappole vicino punti di ingresso, non collegati ad un outbreak;

Africa: Egitto, Libia, Mauritius, Reunion, Sudan;

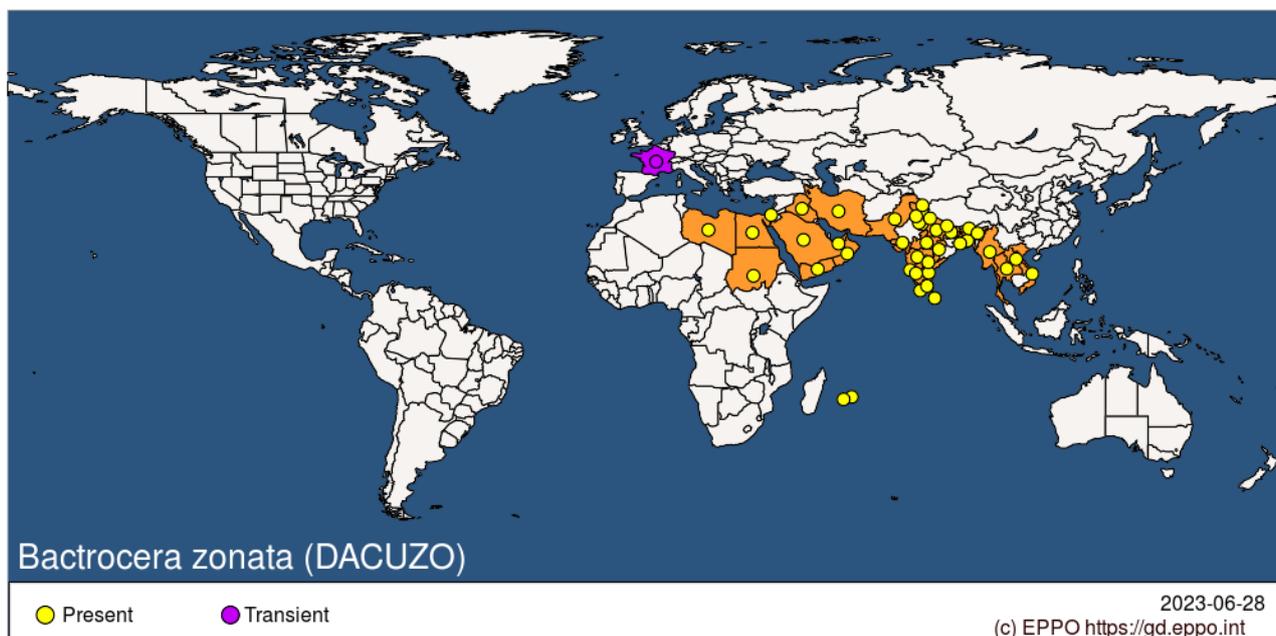
Asia: Bangladesh, Bhutan, India (Andhra Pradesh, Assam, Bihar, Chhattisgarh, Delhi, Goa, Gujarat, Haryana, Himachal Pradesh, Jammu & Kashmir, Karnataka, Kerala, Madhya Pradesh, Maharashtra, Punjab, Tamil Nadu, Telangana, Uttarakhand, Uttar Pradesh, West Bengal), Iran, Iraq, Israele, Laos, Myanmar, Nepal, Oman, Pakistan, Saudi Arabia, Sri Lanka, Thailand, Emirati Arabi Uniti, Vietnam, Yemen;

Nord America: assente

Sud America: assente

Oceania: assente

Mappa EPPO



1.3.1 Presenza in Italia: assente

2. Aspetti biologici dell'organismo

2.1 Morfologia e biologia dell'organismo nocivo



Fig. 1 – Esemplare adulto di *Bactrocera_zonata*. (©IAEA IMAGEBANK/VIA FLICKR - CC BY-SA 2.0)

Gli adulti hanno una lunghezza di circa 6 mm e sono di colore bruno-marrone. Torace caratterizzato da scuto marrone scuro con vitte laterali, scutello e altre porzioni laterali di colore giallo acceso. Margine costale dell'ala privo di banda continua, colorazione presente solo come macchia isolata all'apice dell'ala. Addome marrone, che può presentare due macchie nere ai lati del III tergite (Fig. 1).

Gli stadi immaturi sono larve tendenti dal color crema al giallastro, che raggiungono 10-11 mm di lunghezza e vivono a spese della polpa dei frutti. Gli stadi pupali sono marrone chiaro o scuro, sono lunghi 4,2-5,8 mm e larghi 2,3-2,5 mm.

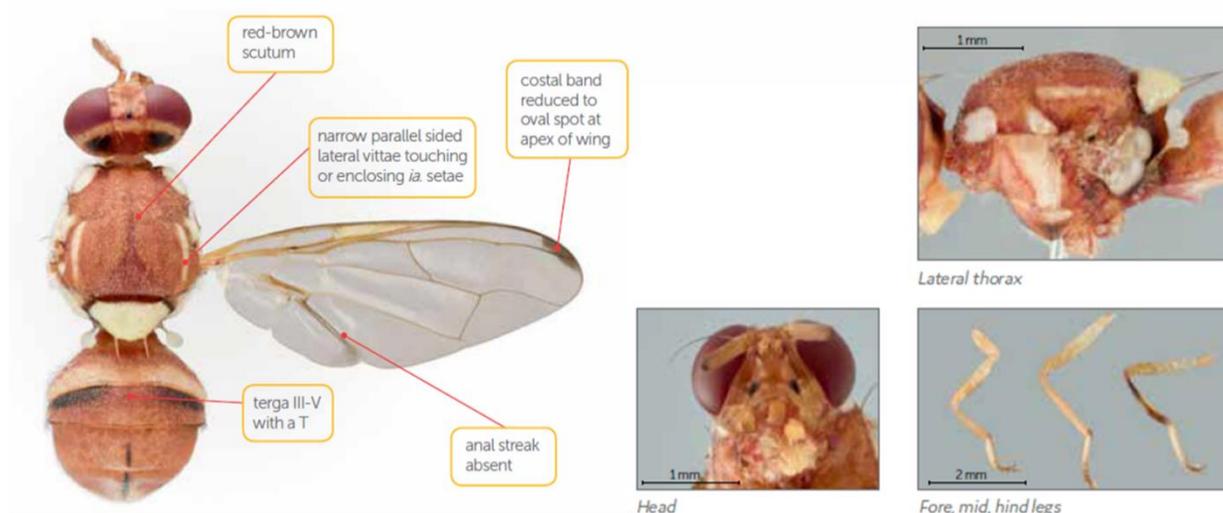


Fig. 2 – Principali caratteri morfologici per il riconoscimento di *Bactrocera zonata* (Plant Health Australia (2018). The Australian Handbook for the Identification of Fruit Flies. Version 3.1. Plant Health Australia. Canberra, ACT).

In base a quanto riportato da Rahman et al. (1993), *B. zonata* sverna nella fase di pupa e gli adulti emergono quando la temperatura ambientale aumenta. Gli adulti compaiono entro la fine di marzo e iniziano l'accoppiamento. La femmina feconda, dopo aver selezionato un sito adatto per l'ovideposizione, inserisce il suo ovopositore nei tessuti del frutto ospite e deposita da tre a nove uova contemporaneamente. Hussain (1995) ha osservato che i frutti ospiti di colore giallo sembrano essere preferiti a quelli verdi e incolore. Una femmina in media depone 564 uova nel corso del suo ciclo vitale (CABI, 2022). L'ovideposizione può avvenire in qualsiasi momento della giornata, ma più spesso nel tardo pomeriggio e nella prima serata (Rahman et al., 1993). Le larve di primo stadio si nutrono e crescono all'interno dell'ospite per 4-21 giorni. La durata dei vari stadi immaturi varia a seconda delle temperature. Dopo la maturazione, le larve cadono a terra e scavano nel terreno per impuparsi. Lo stadio pupale può durare da quattro settimane in estate a sei settimane in inverno. Questa specie sverna come pupa nelle aree in cui è necessaria una vera e propria diapausa (CDFA, 2011).

Le mosche non sono attive a temperature superiori a 35°C o durante la notte, la temperatura ottimale è 25-30 °C. Gli adulti sono stati osservati da fine marzo a metà novembre (Qureshi et al., 1993; Hussain, 1995; Duyck et al., 2004). Se allevata in laboratorio, la durata media della vita adulta di questa specie è di 56 giorni per i maschi e 62 per le femmine (Hussain, 1995), con tre-nove generazioni sovrapposte all'anno. Gli adulti si alimentano di fonti di nettare o frutta in decomposizione. Questo tipo di alimentazione è molto importante anche per la maturazione sessuale. Dalle pupe, gli adulti emergono al mattino e hanno bisogno di 10-16 giorni prima di diventare maturi dal punto di vista riproduttivo. Agarwal & Pramod Kumar (1999) hanno osservato che nel Bihar settentrionale (India) il picco di volo si ha durante la terza settimana di giugno. La

popolazione di mosche è correlata positivamente alla temperatura e all'entità delle precipitazioni, mentre è stata osservata una correlazione negativa tra la popolazione di mosche e l'umidità relativa. Anche l'abbondanza di ospiti è un fattore importante che influisce sulla popolazione.

B. zonata, come *B. dorsalis*, è una specie polifaga, infesta diversi ospiti comuni e mostra competizione interspecifica.

2.2 Sintomi/segni

I frutti attaccati presentano minuscole punture di ovideposizione, ma questi e altri segni dei danni sono spesso difficili da rilevare nelle prime fasi dell'infestazione. All'interno del frutto possono verificarsi danni considerevoli prima che i sintomi siano visibili esternamente. I danni provocati dall'azione trofica delle larve si accompagnano a marciumi causati da funghi saprofiti.

2.3 Piante ospiti (ospiti principali/minori)

Bactrocera zonata è stata segnalata su circa 50 specie di piante coltivate e selvatiche, in particolare su specie con frutti carnosì (EPPO, 2005). Le abitudini polifaghe di *B. zonata* permettono a questa specie di trovare ospiti differenti durante tutto l'anno. *Bactrocera zonata* causa perdite considerevoli soprattutto sul pesco (*Prunus persica*), mango (*Mangifera indica*) e guava (*Psidium guajava*). Il suo host range comprende molte altre specie di interesse economico come albicocco (*Prunus armeniaca*), melo (*Malus domestica*), specie del genere *Citrus*, Cucurbitaceae, melograno (*Punica granatum*), giuggiolo (*Ziziphus* spp.), nespolo (*Eriobotrya japonica*) e altre.

Ospiti principali: *Mangifera indica*, *Psidium guajava*, *Prunus persica* e *Eriobotrya japonica*. (EPPO Global Database, last accessed on May 31st, 2023; El-Ghendy, 2022 in CABI compendium).

L'elenco completo delle specie vegetali i cui frutti ospitano gli stadi preimmaginali della mosca della pesca è riportato in **allegato 1** ed è stato redatto integrando elementi acquisiti da diverse banche dati e dalla consultazione di articoli di recente pubblicazione, riportati nella bibliografia dello stesso allegato.

3. Siti di maggiore rischio

Il rischio maggiore d'introduzione di *B. zonata* è collegato alla movimentazione di frutta infestata contenente uova e/o larve del tefritide, come parte di un carico proveniente da un'area in cui la mosca è presente e diffusa. Le intercettazioni avvenute in Italia hanno riguardato sia prodotti ortofrutticoli appartenenti a spedizioni commerciali, sia frutti introdotti sul territorio nazionale all'interno di bagagli a seguito di passeggeri provenienti dal Nord Africa (in particolare Egitto), il Medio Oriente, India, Pakistan e Sud-Est asiatico. Il rischio per un'area deve essere stabilito dai SFR ponderando diversi fattori, tra i quali la presenza sul territorio di aree potenzialmente sensibili.

I siti a maggiore rischio secondo la codifica Europhyt sono:

All'aperto:

- 1.1 campo (a seminativo, a pascolo)
- 1.2 frutteto/vigneto
- 2.1 giardini privati
- 2.2 siti pubblici
- 2.2 siti pubblici; 2.5.13 altro (parcheggi)
- 2.4 piante spontanee in zone diverse dalle zone di conservazione
- 2.5.5 piazzali di stoccaggio e/o di lavorazione di materiale da imballaggio o di legname; 2.5.13 altro (centro stoccaggio e trasporto)
- 2.5.6 aeroporti, porti, strade, ferrovie
- 2.5.7 punti di ingresso
- 2.5.9 mercati, rivenditori, negozi, rivendite all'ingrosso

Al chiuso:

- 3.2 sito privato, diverso da una serra
- 3.4.4 aeroporti, porti
- 3.4.6 siti al chiuso di trasformazione, lavorazione e confezionamento
- 3.4.7 grossisti, mercati, rivenditori
- 3.4.7 magazzini al chiuso di grande distribuzione

Fra queste sono da considerare a maggiore rischio le aree di produzione di frutti sensibili, le aree marginali alle aree di produzione, le aree urbane a elevato rischio d'introduzione per la presenza di comunità originarie di Paesi terzi in cui la mosca è presente, i punti d'ingresso (porti ed aeroporti e magazzini doganali di primo stoccaggio della frutta importata) e le aree di stoccaggio e smistamento frutta come i mercati ortofrutticoli o magazzini che trattano frutta esotica proveniente da paesi terzi

con dichiarata presenza di *B. zonata* o frutta sensibile prodotta all'interno delle aree delimitate comunitarie.

4. Indagine/survey

Modalità di indagine previste

- ✓ Osservazione visiva – *Visual Inspection*
- ✓ Campionamento – *Sample Taking*
- ✓ Indagine con trappole - *Trapping*

4.1 Osservazione visiva

Aspetti generali:

Sito di Indagine	Cosa guardare	Periodo di osservazione	Immagini
In punti di ingresso frontaliere o in aree considerate a rischio fitosanitario per l'ingresso di questo pest (vedi punto 3)	Danni su frutti in via di maturazione provocati dalla puntura di ovideposizione effettuata dalle femmine di <i>B. zonata</i> , che innesca processi di marcescenza acuti dall'ingresso di microrganismi fungini saprofiti.	Tutto l'anno con maggior attenzione al periodo di importazione di frutta dai paesi in cui è presente <i>B. zonata</i> .	 <p>Puntura di ovideposizione di <i>Ceratitidis capitata</i> su pera. Sintomo simile a quello causato dall'ovideposizione operata da <i>B. zonata</i>. (Foto: Leonardo Marianelli CREA – DC)</p>
In campi di produzione di frutta, durante il periodo di maturazione della frutta di piante ospiti.	<ul style="list-style-type: none"> • Foro di ovideposizione con inizio marcescenza della polpa • Frutti in marcescenza dove è possibile trovare larve interne. • In punti di ingresso frontaliere eventuale presenza di pupari sulla fondo di scatole di imballaggio della frutta marcescente osservata 	Tutto l'anno il periodo di osservazione è legato al periodo di maturazione della frutta degli impianti frutticoli monitorati	

4.2 Campionamento

Aspetti generali:

Sito di Indagine	Cosa prelevare	Periodo di Prelievo	Come conservare	Immagini
Punti di ingresso frontaliere / magazzini doganali / grossisti di ortofrutta / mercati ortofrutticoli / aree di produzione ortofrutticola	Frutti maturi con sintomi di ovideposizione di dittero tefritide da cui isolare: Uova/Larve	Tutto l'anno nel periodo di maturazione della frutta di piante ospiti	Uova in alcol al 96% per l'identificazione molecolare. Le larve/pupe immerse in acqua bollente per pochi secondi, fino alla morte, e successivamente conservate in alcol al 70%. In questo modo la larva non perde il suo colore naturale e si mantiene turgida, condizione utile per un suo successivo processamento o diagnostico. ¹	 <p>Larvae</p> <p>Larve di <i>B. zonata</i> in alimentazione (foto: https://agritech.tnau.ac.in/crop_protection/custard_pest/capple_2.html)</p>

¹ L'ultimo stadio larvale è l'unico utile all'identificazione con tecnica morfologica. Materiale entomologico composto da larve delle prime età e uova deve essere destinato direttamente alla diagnosi di tipo biomolecolare e quindi, una volta raccolti dal frutto infestato, i campioni entomologici devono essere conservati in alcol al 96%.

4.3 Indagine con trappole

Aspetti generali:

Il monitoraggio con trappole è alla base del Piano Nazionale di Indagine (PNI) per *Bactrocera zonata*. Così come previsto dal Piano, nelle aree libere da mosca della pesca, il monitoraggio dovrà essere effettuato principalmente attraverso l'utilizzo di trappole attrattive.

Come riportato nel documento ISPM 26, gli attrattivi usati più comunemente sono: metileugenolo (ME), 3C (attrattivo alimentare sintetico a tre componenti – acetato di ammonio, putrescina, trimetilamina) principalmente per la cattura di femmine, e acetato di ammonio. Le trappole tipo *McPhail*, attivate con il metileugenolo, risultano efficaci nell'individuazione precoce dell'organismo alieno.

Densità delle trappole suggerita per *Bactrocera* spp. (ISPM 26)

Tipologia di monitoraggio	Tipo di trappola	Attrattivo	Densità trappole /km ²			
			Area produttiva	Area marginale	Area urbana	Punti d'ingresso
Indagini per la Sorveglianza del territorio	ChamP trap Easy trap Jackson trap Lynfield trap McPhail trap Multilure trap Maghreb-Med or Morocco trap Steiner trap Tephri trap Yellow panel trap	metileugenolo (ME) Attrattivi alimentari proteici (PA) (Torula, Proteine idrolizzate, ecc.) Cuelure	1	1	1-5	3-12

Cosa guardare: Adulti, maschi (se trappola innescata con il paraferomone metileugenolo), maschi e femmine (se trappole innescate con attrattivo alimentare (es. Torula, lieviti vari))

Sito di indagine	Tipologia di trappola	Posizionamento trappola	Periodo di esposizione - frequenza consigliabile dei controlli	Immagini
<p>Punti di ingresso frontalieri / magazzini doganali / grossisti di ortofrutta / mercati ortofrutticoli / aree di produzione ortofrutticola</p>	<p>Bait trap²</p>	<p>Nelle vicinanze di aree di movimentazione e stoccaggio della frutta / aree di smaltimento di frutta marcescente.</p> <p>Nota tecnica: la trappola deve essere facilmente raggiungibile perché soggetta ad un frequente controllo da parte degli operatori (nel caso di innesco con <i>Torula</i> anche dopo una settimana o con frequenze maggiori in modo da non rendere il monitoraggio inefficacia per impossibilità di riconoscimenti degli insetti raccolti)</p>	<p>Aprile - dicembre</p>	<div style="text-align: center;">  <p>TRAPPOLA McPhail (https://www.pherobank.com/trap-type/mcp.html)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>REBELL TRAP (cromotropiche a croce) (https://www.novagrica.com/product/rebell-trap/)</p> </div>

Modalità di gestione campioni biologici presenti nella trappola (da all.3 Piano sorveglianza nazionale):

- 1) In presenza di SOLI individui MORTI all'interno della trappola
 - ruotare il fondo al fine di separarlo dal coperchio superiore;

²Mc phail + attrattivo methyl eugenol (ME) (1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl) benzene)

- recuperare delicatamente ogni campione con l'ausilio di una pinzetta morbida, al fine di evitare danni;
- inserire ogni campione in un singolo contenitore a chiusura ermetica (tipo eppendorf o falcon);
- scrivere sul contenitore il codice del campione, il numero o codice della trappola, luogo, data con un pennarello indelebile;
- posizionare i contenitori in busta di plastica chiusa;
- riportare le informazioni dei campioni anche sulla busta- contenitore (il numero o codice della trappola, luogo, data, numero di campioni contenuti nella busta);
- conservare la busta in borsa frigo o frigorifero (se in dotazione) e trasportarla presso il laboratorio di riferimento;
- in laboratorio i campioni dovranno essere conservati a -20°C sino al loro utilizzo avendo cura di staccare da ogni insetto catturato almeno la zampa anteriore destra (o in mancanza un'altra zampa) per conservarla in alcool assoluto a -20°C.

2) In presenza di individui VIVI all'interno della trappola

- staccare la trappola dal supporto e spruzzare attraverso il foro inferiore una leggera quantità di ghiaccio spray;
- verificare l'immobilità degli individui, in caso contrario spruzzare nuovamente una leggera quantità di ghiaccio spray;
- ruotare il fondo al fine di separarlo dal coperchio superiore;
- recuperare delicatamente ogni campione con l'ausilio di una pinzetta morbida, al fine di evitare danni;
- inserire ogni campione in un singolo contenitore a chiusura ermetica (tipo eppendorf o falcon);
- scrivere sul contenitore il codice del campione, il numero o codice della trappola, luogo, data con un pennarello nero indelebile;
- posizionare i contenitori in busta di plastica chiusa;
- riportare le informazioni dei campioni anche sulla busta-contenitore (il numero o codice della trappola, luogo, data, numero di campioni contenuti nella busta);
- conservare la busta in borsa frigo o frigorifero (se in dotazione) e trasportarla presso il laboratorio di riferimento;
- in laboratorio i campioni dovranno essere conservati a -20°C sino al loro utilizzo avendo cura di staccare almeno la zampa anteriore destra (o in mancanza un'altra zampa) per conservarla in alcool assoluto a -20°C.

5. Diagnosi

Protocolli ufficiali SFN

Non disponibile

Standard di riferimento:

ISPM 26:

Establishment of pest free areas for fruit flies (Tephritidae), 2018

PM EPPO:

PM 9/11 (1) *Bactrocera zonata*: procedure for official control

PM 7/114 (1) *Bactrocera zonata* – EPPO standard Diagnostic Method

PM 7/129 (2) DNA barcoding as an identification tool for a number of regulated pests

5.1 Campione/Matrice

Insetto nei suoi vari stadi di sviluppo (uovo, larva, pupa, adulto)

Conservazione del campione per una corretta diagnosi:

- UOVO, LARVA (Prime due età), PUPARIO – conservare il campione in alcol 96%
- LARVA 3° STADIO, ADULTO – conservare il campione in alcol al 70% per la diagnosi con metodo diagnostico MORFOLOGICO; conservare il campione in alcol al 96% per la diagnosi con metodo diagnostico BIOMOLECOLARE

5.2 Test per l'identificazione

Tipologie diagnostiche previste all'interno del monitoraggio cofinanziato

- Morphological identification
- PCR
- PCR+Sequencing (va indicato quando si fa insieme la PCR e si invia al sequenziamento)

Identificazione morfologica

richiede un'analisi attenta degli adulti catturati oppure ottenuti dall'allevamento delle larve raccolte in campo.

Chiavi disponibili per l'identificazione Morfologica di Adulti di Tefritide: White and Elson-Harris (1992); Drew and Hancock (1994) – chiavi per la diagnosi morfologica dei tefritidi; Virgilio, White and De Meyer (2014) - a set of multi-entry electronic identification keys to African FF <https://fruitflykeys.africamuseum.be/en/browse.html>; Plant health Australia (2018)

<https://www.fruitflyidentification.org.au/> ; PM 7/114 (1) *Bactrocera zonata* – EPPO standard Diagnostic Method, Appendix 1.

Identificazione molecolare: come riportato nella Pest Survey Card di EFSA su *B. zonata* (2021) e nel PM 7/129, è descritto un protocollo per DNA barcoding del gene della citocromo ossidasi I (COI); inoltre Koohkanzadeh et al. (2018) ha sviluppato un protocollo per PCR Real-time basato sul gene COI che mantiene alta specificità quando si analizzano vari stadi del ciclo vitale.

Plant Health Australia (2016) ha pubblicato un protocollo diagnostico per l'identificazione delle specie di *Bactrocera* usando i metodi biomolecolari. Tale documento riassume tre opzioni molecolari per l'identificazione:

1. PCR convenzionale e polimorfismo della lunghezza dei frammenti di restrizione (RFLP) della regione ITS1 (Plant Health Australia, 2016), analisi PCR-RFLP di un segmento di matrice ribosomiale del DNA, comprese le regioni geniche ITS1 e 18S (Armstrong et al., 1997; Armstrong e Cameron, 2000).
2. DNA barcoding del gene della citocromo ossidasi I (COI) (Armstrong and Ball, 2005).

Bibliografia

- Agarwal ML & Pramod Kumar (1999) Effect of weather parameters on population dynamics of peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders). *Entomon* 24, 81-84
- Armstrong KF, Cameron CM & Frampton ER (1997) Fruit fly (Diptera: Tephritidae) species identification: A rapid molecular diagnostic technique for quarantine application. *Bulletin of Entomological Research* 87, 111–118.
- Armstrong KF & Cameron CM (2000) Species identification of tephritids across a broad taxonomic range. In *Area-wide control of fruit flies and other insect pests* (ed KH Tan), pp. 703–710. Penang, Malaysia, CABI Publishing.
- Armstrong KF & Ball SL (2005) DNA barcodes for biosecurity: Invasive species identification. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 360, 1813-1823.
- CABI Compendium (2022) <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.17694>
- CDFA (2011) Peach Fruit Fly Pest Profile. Accessed on January 5, 2011 from: http://www.cdfa.ca.gov/phpps/pdep/target_pest_disease_profiles/peach_ff_profile.html.
- Duyck PF, Sterlin JF & Quilici S (2004) Survival and development of different life stages of *Bactrocera zonata* (Diptera: Tephritidae) reared at five constant temperatures compared to other fruit fly species. *Bulletin of Entomological Research* 94, 89-93.
- El-Gendy I (2022) *Bactrocera zonata* (peach fruit fly), CABI Compendium. CABI International. doi: 10.1079/cabicompendium.17694.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) (2005) Data sheets on quarantine pests: *Bactrocera zonata*. *Bulletin OEPP/EPPO* 35, 371–373.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) (2010) PM 9/11 (1) *Bactrocera zonata*: procedure for official control. *Bulletin OEPP/EPPO* 40, 390-395. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2010.02421.x>
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) (2013) PM 7/114 (1) *Bactrocera zonata*. *Bulletin OEPP/EPPO* 43, 412-416. <https://doi.org/10.1111/epp.12058>
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) (2021) PM 7/129 (2) DNA barcoding as an identification tool for a number of regulated pests. *Bulletin OEPP/EPPO* 51, 100-143. <https://doi.org/10.1111/epp.12724>
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), Reporting Service no. 02 - 2023 Num. article: 2023/038
- European Food Safety Authority (EFSA), Mertens J, Schenk M, Delbianco A, Graziosi I & Vos S (2021) Pest survey card on *Bactrocera zonata*. *EFSA Supporting Publications* 18, 1999E.
- Hussain T (1995) *Demography and population genetics of Dacus zonatus* (Saunders). Thesis, University of the Punjab, Pakistan. 308 pp.

- Koohkanzadeh M, Zakiaghi M, Dhami MK, Fekrat L & Namaghi HS (2018) Rapid identification of *Bactrocera zonata* (Dip.: Tephritidae) using TaqMan real-time PCR assay. *PLoS One* 13, e0205136. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205136>
- Plant Health Australia (2018) *The Australian Handbook for the Identification of Fruit Flies*. Version 3.1. Plant Health Australia. Canberra, ACT
- Qureshi ZA, Hussain T, Carey JR & Dowell RV (1993) Effects of temperature on development of *Bactrocera zonata* (Saunders) (Diptera:Tephritidae). *Pan-Pacific Entomologist* 69, 71-76.
- Rahman O, Rahman S & Agarwal ML (1993) Biology and immature stage of *Dacus (Bactrocera) zonatus* (Saunders) (Diptera: Tephritidae). *Journal of Animal Morphology and Physiology* 40, 45-52.

Allegato 1

SPECIE OSPITI DI *Bactrocera zonata*

OSPITE	SPECIE	NOME COMUNE
PRINCIPALE	<i>Eriobotrya japonica</i>	NESPOLO
PRINCIPALE	<i>Mangifera indica</i>	MANGO
PRINCIPALE	<i>Prunus persica</i>	PESCO
PRINCIPALE	<i>Psidium guajava</i>	GUAVA
SECONDARIA	<i>Abelmoschus esculentus</i>	GOMBO
SECONDARIA	<i>Aegle marmelos</i>	BILVA
SECONDARIA	<i>Azelia xylocarpa</i>	
SECONDARIA	<i>Annona reticulata</i>	
SECONDARIA	<i>Annona squamosa</i>	
SECONDARIA	<i>Careya arborea</i>	
SECONDARIA	<i>Carica papaya</i>	PAPAYA
SECONDARIA	<i>Citrullus lanatus</i>	COCOMERO
SECONDARIA	<i>Citrus</i> spp.	
SECONDARIA	<i>Citrus x aurantium</i>	ARANCIO AMARO
SECONDARIA	<i>Citrus x limon</i>	LIMONE
SECONDARIA	<i>Citrus x paradisi</i>	POMPELMO
SECONDARIA	<i>Citrus reticulata</i>	MANDARINO
SECONDARIA	<i>Citrus x sinensis</i>	ARANCIO
SECONDARIA	<i>Coccinia grandis</i>	
SECONDARIA	<i>Cucumis sativus</i>	CETRIOLO
SECONDARIA	<i>Cucurbita</i> spp.	
SECONDARIA	<i>Cydonia oblonga</i>	COTOGNO
SECONDARIA	<i>Diospyros</i> spp.	DIOSPERO
SECONDARIA	<i>Elaeocarpus hygrophilus</i>	
SECONDARIA	<i>Ficus carica</i>	FICO
SECONDARIA	<i>Grewia asiatica</i>	
SECONDARIA	<i>Lagenaria siceraria</i>	
SECONDARIA	<i>Luffa acutangula</i>	
SECONDARIA	<i>Luffa</i> spp.	
SECONDARIA	<i>Malpighia emarginata</i>	
SECONDARIA	<i>Malus domestica</i>	MELO
SECONDARIA	<i>Manilkara zapota</i>	
SECONDARIA	<i>Mimusops elengi</i>	
SECONDARIA	<i>Momordica charantia</i>	ZUCCA AMARA
SECONDARIA	<i>Persea americana</i>	AVOCADO
SECONDARIA	<i>Phoenix dactylifera</i>	
SECONDARIA	<i>Prunus armeniaca</i>	ALBICOCCO
SECONDARIA	<i>Psidium cattleianum</i>	GUAYABITA DEL PERÚ
SECONDARIA	<i>Punica granatum</i>	MELOGRANO

SECONDARIA	<i>Putranjiva roxburghii</i>	
SECONDARIA	<i>Pyrus communis</i>	<i>PERO</i>
SECONDARIA	<i>Pyrus ussuriensis</i>	
SECONDARIA	<i>Syzygium jambos</i>	<i>MELAROSA</i>
SECONDARIA	<i>Syzygium samarangense</i>	
SECONDARIA	<i>Terminalia catappa</i>	<i>MANDORLO INDIANO</i>
SECONDARIA	<i>Ziziphus jujuba</i>	<i>GIUGGIOLO</i>
SECONDARIA	<i>Ziziphus mauritiana</i>	<i>GIUGGIOLO INDIANO</i>

Bibliografia:

CABI: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/17694>

EPPO database: <https://gd.eppo.int/taxon/DACUZO/hosts>