

Allegato 'A'

PIANO REGIONALE DI ATTUAZIONE DEL PIANO NAZIONALE DI EMERGENZA PER LA GESTIONE DI 'XYLELLA FASTIDIOSA' IN ITALIA

1) Obiettivi del Piano regionale di attuazione

Xylella fastidiosa è un batterio incluso nella lista degli organismi nocivi da quarantena dell'Unione europea previsti nell'allegato I, Parte A, Sezione I, della Direttiva del Consiglio 2000/29/CE; è stato riscontrato per la prima volta sul territorio dell'Unione europea nel 2013.

Come riportato nel Decreto MiPAAF del 18 febbraio 2016 "Definizione delle aree indenni dall'organismo nocivo *Xylella fastidiosa* (Wells et al.) nel territorio della Repubblica italiana" tutte le aree della Repubblica italiana sono dichiarate indenni da *Xylella fastidiosa* ad eccezione della zona delimitata e della zona di sorveglianza in Puglia, definite dalla Decisione di esecuzione 2015/789/UE della Commissione (e s.m.i.).

Le finalità del 'Piano regionale di attuazione' sono quelle di individuare le procedure in grado di garantire una risposta rapida, efficace e coordinata all'eventuale primo rinvenimento del patogeno *Xylella fastidiosa* nel territorio della regione Toscana, al fine di consentirne il controllo e l'eradicazione dei focolai o, in caso di impossibilità, di contenerne al massimo lo sviluppo.

Il presente 'Piano regionale di attuazione' ottempera a quanto previsto dalla normativa unionale e nazionale, in particolare dal D.M. 7 dicembre 2016 "Misure di emergenza per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di *Xylella fastidiosa* (Well e Raju) nel territorio della Repubblica italiana" e sostituisce il Piano di emergenza regionale approvato con Decreto Dirigenziale n. 6070 del 17/12/2014 e il "Piano di monitoraggio regionale per la sorveglianza del batterio *Xylella fastidiosa*" approvato con Decreto Dirigenziale n. 5804 del 14/7/2016 e si coordina con quanto indicato nella scheda relativa alla sorveglianza sulla presenza del batterio *Xylella fastidiosa* del "Piano annuale delle attività", redatto ogni anno dal Servizio Fitosanitario Regionale e approvato con Decreto Dirigenziale (per il 2017 DD n. 4759 del 18 aprile 2017)

2) Informazioni di base sul patogeno e sul vettore a seguito dei monitoraggi svolti in Toscana

Le informazioni di base sul patogeno e sugli insetti vettori sono riportate nell'allegato III al Decreto MIPAAF 7 dicembre 2016 e la lista delle specie vegetali sensibili al batterio è riportata nell'allegato I al suddetto Decreto e, ai sensi delle Decisioni UE 2015/789 e UE 2015/2417, la lista aggiornata è consultabile nella banca dati della Commissione europea all'indirizzo:

http://ec.europa.eu/food/plant/plant_health_biosecurity/legislation/emergency_measures/index_en.htm.

In base alla sua posizione geografica, baricentrica rispetto ai focolai presenti in Puglia, PACA e Corsica, la Toscana è da considerarsi una regione ad alto rischio a seguito del movimento di merci, persone e mezzi di trasporto provenienti anche dalle zone infette, con le quali è collegata da vie di grande comunicazione sia autostradali che marittime.

Al fine di verificare lo stato fitosanitario del territorio regionale, negli anni 2014, 2015 e 2016 sono state svolte specifiche campagne di monitoraggio finalizzate all'individuazione di eventuali focolai di *Xylella fastidiosa* (Xf) e dei suoi vettori.

In particolare le attività di controllo fitosanitario (esame visivo e prelievo campioni) si sono esplesate nelle aree potenzialmente a maggior rischio:

1. vivai olivicoli, vivai ornamentali e garden, che coltivano o commercializzano piante sensibili a Xf e aree circostanti;
2. principali vie di comunicazione: strade, autostrade, aree di sosta con particolare riferimento a quelle provenienti da e verso la Francia (PACA) e la Puglia;
3. punti di entrata (porto di Livorno, aeroporto di Pisa) e punti di transito intracomunitari (aeroporti di Firenze e Grosseto, interporto di Prato, porto passeggeri Livorno, Piombino, Porto Santo Stefano, Massa) e aree circostanti;
4. isole dell'Arcipelago toscano situate sulla rotta da e per la Corsica;
5. aree turistiche (per es. campeggi) e porti turistici;
6. frutteti di specie sensibili (oliveti, vigneti, coltivazioni di Prunus);
7. aree verdi non coltivate o abbandonate, parchi, giardini, boschi urbani e periurbani, macchia mediterranea;
8. stabilimenti che utilizzano vegetali provenienti dalle zone delimitate (per es. frantoi che lavorano olive della Puglia) e aree circostanti;
9. aree ospitanti piante sensibili al batterio con sintomi di deperimento ascrivibili alla sintomatologia descritta in bibliografia.

Il prelievo dei campioni vegetali è stato effettuato su tutto il territorio regionale su specie sensibili a *Xylella fastidiosa*, sia asintomatiche che con sintomi specifici riconducibili all'infezione batterica.

Le principali specie vegetali indagate sono state le seguenti: *Acer sp.*, *Actinidia*, *Albizia*, *Asparagus*, *Cistus sp.*, *Cytisus scoparius*, *Citrus sp.*, *Grevillaea*, *Lagerstroemia*, *Laurus nobilis*, *Lavandula sp.*, *Metrosideros sp.*, *Myrtus communis*, *Nerium oleander*, *Olea europea*, *Pelargonium sp.*, *Phyllirea angustifolia*, *Polygala myrtifolia*, *Prunus sp.*, *Quercus sp.*, *Rosa sp.*, *Rosmarinus officinalis*, *Spartium junceum*, *Vinca*, *Vitis sp.*, *Westringia sp.*

Le analisi dei campioni vegetali sono state effettuate presso il Laboratorio di diagnostica fitopatologica e biologia molecolare del SFR, impiegando il metodo PCR real time (Francis et al. 2006), i risultati sono stati tutti negativi.

Contestualmente nelle stesse aree a rischio sopra descritte, è stato effettuato il monitoraggio su insetti vettori con prelievo di campioni di *Philaenus spumarius*, *Cicadella viridis* e altri emittenti appartenenti alle famiglie *Aphrophoridae*, *Cercopidae* e *Cicadellidae*.

L'analisi batteriologica molecolare sulla presenza del batterio *Xylella fastidiosa* in insetti vettori si è svolta presso il Laboratorio del CREA-DC, con risultati tutti negativi.

3) Ruoli e responsabilità del Piano regionale di attuazione; individuazione dell'unità di crisi.

Ai fini del coordinamento e del raccordo fra i soggetti interessati e ai sensi della lettera e) del punto 5.4 dell'allegato III al D.M. 7 dicembre 2016, in caso di incontestabile rinvenimento positivo di *Xylella fastidiosa* è prevista la costituzione di:

- Unità di crisi per la gestione dell'emergenza, di cui fanno parte:
 - l'Assessore all'Agricoltura, foreste, caccia e pesca;
 - il Direttore della Direzione 'Agricoltura e sviluppo rurale';
 - il Direttore della Direzione 'Ambiente ed energia';
 - il Direttore della Direzione 'Difesa del suolo e Protezione civile';
 - i Dirigenti della Regione Toscana dei settori:
 - Servizio fitosanitario regionale e di vigilanza e controllo agroforestale (SFR)
 - Forestazione. Usi civici. Agroambiente;
 - Produzioni agricole, vegetali e zootecniche. Promozione;
 - Tutela della natura e del mare;
 - Protezione civile e riduzione del rischio alluvioni.
 - Il Sindaco del Comune o dei Comuni interessati.
 - il Comando regionale Carabinieri forestale della Toscana;
 - i Rappresentanti regionali delle Organizzazioni professionali agricole;
 - i Rappresentanti regionali delle associazioni dei produttori delle filiere agricole interessate;
 - i Rappresentanti regionali delle Associazioni ambientaliste e volontaristiche ambientali.

La costituzione e convocazione dell'Unità di crisi è ufficializzata dall'Assessore all'Agricoltura, foreste, caccia e pesca.

4) Azioni da intraprendere nel caso di rilevamento di specie vegetali con sospetta positività al batterio

Nei casi di sospetta positività, il Servizio fitosanitario regionale (SFR) mette in atto le azioni necessarie all'accertamento della presenza del batterio:

1. Gli addetti del SFR effettuano il prelievo ufficiale dei campioni delle specie vegetali sospette e trasmettono i campioni al Laboratorio di diagnostica fitopatologica e di biologia molecolare del Servizio, adottando le procedure interne codificate; il laboratorio effettua le analisi ufficiali di screening di I livello.
2. in caso di positività allo screening di I livello, il/i campione/i deve/devono essere inviato/i al laboratorio di riferimento ed autorizzato dal Servizio Fitosanitario Centrale (SFC), per effettuare le analisi di conferma di II livello necessarie per il rilascio della diagnosi ufficiale, (il laboratorio di riferimento per *Xylella fastidiosa* è quello del CNR-Istituto per la protezione delle piante, presso l'Area della Ricerca di Bari) avvisando, contestualmente, il Servizio fitosanitario centrale.

5) Azioni da intraprendere nel caso di rilevamento di specie vegetali con confermata positività al batterio

In caso di ritrovamento incontestabile e accertato dell'organismo nocivo *Xylella fastidiosa* sul territorio della regione Toscana, il SFR lo notifica immediatamente al Servizio Fitosanitario Centrale ai sensi della Direttiva 2000/29/CE, della Decisione 2014/917/UE e del Piano nazionale di emergenza approvato con D.M. del 7 dicembre 2016.

Inoltre il SFR, adotta le misure fitosanitarie ufficiali previste dallo stesso DM e predispone la delimitazione ufficiale.

Nelle zone delimitate (zona infetta e zona cuscinetto) dovrà essere pianificato il monitoraggio intensivo delle specie vegetali sensibili, comprendente il campionamento intensivo delle piante presenti nel raggio di 100 m dalle singole piante infette e il monitoraggio intensivo degli insetti vettori (*Philaenus spumarius*, *Cicadella viridis*, *Neophilaenus campestris*, *Euscelis lineolatus* e altri emitteri appartenenti alle seguenti famiglie: *Aphrophoridae*, *Cercopidae*, *Cicadellidae*).

Inoltre:

- il Dirigente Responsabile del SFR con ordine di servizio costituisce le squadre composte da ispettori fitosanitari, agenti fitosanitari e da altro personale del SFR per la realizzazione del monitoraggio e del campionamento; il Dirigente Responsabile del SFR se necessario, richiede la disponibilità di personale aggiuntivo ad altri Settori della Regione Toscana e ad altri soggetti esterni all'Ente;
- nel caso necessitino collaborazioni onerose, il Dirigente si attiva per reperimento degli eventuali ulteriori fondi necessari all'attività di monitoraggio e di prelievo campioni;
- il SFR garantisce un contatto costante con il MIPAAF – Servizio fitosanitario centrale;
- il SFR chiede ad ARTEA i dati e la cartografia delle aziende agricole ricadenti nelle zone delimitate;
- il SFR chiede ai Comuni i dati relativi alla proprietà delle superfici extra agricole ricadenti nelle zone delimitate;
- Il SFR, in collaborazione con gli esperti presenti al Tavolo Tecnico Scientifico, organizza incontri di aggiornamento tecnico degli ispettori Fitosanitari, agenti fitosanitari e di tutto il personale interno ed esterno individuato per gestire l'emergenza;
- Il SFR pianifica e organizza le azioni di monitoraggio e sorveglianza fitosanitaria sul territorio interessato;
- Il SFR pianifica e dispone le azioni di eradicazione del focolaio e di contenimento della popolazione degli insetti vettori come previste dal D.M. del 7 dicembre 2016, proponendo all'unità di crisi le specifiche azioni da mettere in atto, adottando le misure di sorveglianza relative alla loro corretta esecuzione;
- il SFR raccoglie, registra e archivia tutta la documentazione riguardante le azioni messe in atto da ciascun soggetto impegnato nella applicazione delle misure di emergenza.

6) Pianificazione della comunicazione esterna

Il Servizio Fitosanitario Regionale dà la massima divulgazione relativamente al rilevamento del focolaio sul territorio regionale e della pericolosità del patogeno, dei sintomi e delle tecniche di prevenzione e di lotta ai vettori e, affinché gli operatori professionali e la cittadinanza siano informati dei rischi e delle misure da prendere in caso di diffusione del parassita, promuove le seguenti azioni:

1) informazione della popolazione, in collaborazione con l'Agencia per le attività di informazione della Giunta Regionale, mediante volantini, manifesti, pieghevoli da divulgare capillarmente nella zona colpita dal patogeno e a livello regionale.

I principali soggetti da sensibilizzare sono:

- le Amministrazioni pubbliche territoriali,
- le Organizzazioni di Categoria del settore agricolo,
- gli Ordini Professionali,
- le Associazioni dei produttori olivicoli ed altre Associazioni,
- i vivaisti del settore olivicolo, vitivinicolo e ornamentale,
- i titolari di vivai e 'garden',
- i titolari e operatori di frantoi olivicoli.

2) Predisposizione pagine di Web nel sito della Regione Toscana appositamente dedicate all'emergenza, dove saranno inserite tutte le informazioni relative al patogeno ed ai suoi vettori, al focolaio di infezione, ai metodi di prevenzione della diffusione dell'infezione e la cartografia ufficiale con i risultati del monitoraggio.

3) Richiesta della segnalazione della eventuale presenza di piante sintomatiche da parte di operatori del settore e della cittadinanza attraverso strumenti appositamente dedicati.

4) Attivazione di una campagna stampa in collaborazione con l'Agencia per le attività di informazione della Giunta Regionale, finalizzata ad informare la popolazione sulla presenza dell'infezione e sulla prevenzione della diffusione del patogeno e sui rischi economici, ambientali e paesaggistici connessi.

7) Predisposizione del Piano di Azione per l'applicazione delle misure di prevenzione e contenimento

Il SFR, con il supporto del Tavolo Tecnico Scientifico, in caso di ritrovamento di un focolaio esteso e di difficile eradicazione immediata, redige ed adotta un Piano di Azione concernente le misure ufficiali per il contenimento e l'eradicazione dell'organismo specificato in conformità all'articolo 16, paragrafo 1, della direttiva 2000/29/CE e in applicazione del Decreto Ministeriale 7 dicembre 2016 e delle vigenti normative europee e nazionali.

8) Durata e aggiornamento del Piano regionale di attuazione

Il presente Piano regionale di attuazione resta in vigore fino all'approvazione del Piano di Azione di cui sopra.

Il presente Piano regionale di attuazione potrà essere aggiornato nel periodo della sua validità, a seguito di verifica della sua efficacia e del necessario adeguamento a seguito di aggiornamenti scientifici e normativi e in merito all'evoluzione della diffusione del patogeno o del suo vettore.

ALLEGATO AL PIANO

PIANO DI MONITORAGGIO E SORVEGLIANZA PER RILEVARE L'EVENTUALE PRESENZA IN TOSCANA DEL PATOGENO *XYLELLA FASTIDIOSA* (Well e Raju)

1) Piano di monitoraggio e indagini ufficiali

Il Piano di Monitoraggio e sorveglianza è redatto in attuazione di quanto previsto dal D.M. 7 dicembre 2016 recante misure di emergenza per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di *Xylella fastidiosa* (Wells et al.) nel territorio della Repubblica italiana.

Il presente piano viene realizzato attraverso indagini ufficiali che il Servizio fitosanitario effettua, direttamente o sotto la sua sorveglianza, sulle piante sensibili all'organismo specificato *Xylella fastidiosa* per rilevare l'eventuale presenza del batterio nel territorio regionale.

Le indagini consistono in esami visivi e nel prelievo dei campioni per le relative analisi, effettuati nei periodi opportuni per rilevare la presenza dell'organismo specificato, secondo le linee guida ministeriali (allegato 3 del Piano nazionale di emergenza approvato con Decreto 7 dicembre 2016).

Il presente Piano si coordina con quanto indicato nella scheda relativa alla sorveglianza sulla presenza del batterio *Xylella fastidiosa* del Piano annuale delle attività (PAA) del Servizio Fitosanitario Regionale che viene aggiornato annualmente e approvato con Decreto Dirigenziale.

Il monitoraggio verrà effettuato sulla base delle liste delle piante ospiti e delle piante sensibili a *Xylella fastidiosa* adottate e aggiornate dalla Commissione europea. Ai sensi delle Decisioni UE 2015/789 e UE 2015/2417, la lista aggiornata delle "piante ospiti" sensibili a *Xylella fastidiosa* nel territorio dell'Unione" è consultabile nella banca dati della Commissione all'indirizzo : http://ec.europa.eu/food/plant/plant_health_biosecurity/legislation/emergency_measures/index_en.htm.

2) Localizzazione dei controlli

La Toscana rientra tra le aree dichiarate indenni dall'organismo nocivo *Xylella fastidiosa* ai sensi del Decreto 18 febbraio 2016.

Considerata la pericolosità del patogeno e la vicinanza della Toscana sia alle zone infette della Puglia, della Francia e della Corsica che alle zone cuscinetto della Liguria, si deve porre un alto livello di attenzione con controlli su tutto il territorio regionale. Il SFR annualmente dovrà intraprendere attività di monitoraggio finalizzate sia ad escludere la presenza di *Xylella fastidiosa* nel territorio regionale che a prevenirne l'introduzione anche attraverso gli scambi commerciali di materiali vegetali. Infatti la

regione Toscana, con il distretto di Pistoia, rappresenta uno dei più grandi poli vivaistici europei.

Pertanto in Toscana le indagini devono concentrarsi nelle aree considerate a maggior rischio di introduzione dell'organismo specificato, quali ad esempio:

- vivai olivicoli, vivai ornamentali e garden, che coltivano o commercializzano piante sensibili a Xf e aree circostanti;
- frutteti di specie sensibili (oliveti, vigneti, coltivazioni di prunus);
- altri siti:
 - o principali vie di comunicazione: strade, autostrade, aree di sosta con particolare riferimento a quelle provenienti da e verso la Francia (PACA) e la Puglia;
 - o punti di entrata (porto di Livorno, aeroporto di Pisa) e punti di transito intracomunitari (aeroporti di Firenze e Grosseto, interporto di Prato, porto passeggeri Livorno, Piombino, Porto Santo Stefano, Massa) e aree circostanti;
 - o isole dell'Arcipelago toscano situate sulla rotta da e per la Corsica;
 - o aree turistiche (per es. campeggi) e porti turistici;
 - o aree verdi non coltivate e abbandonate, parchi, giardini, boschi urbani e periurbani, macchia mediterranea;
 - o stabilimenti che utilizzano vegetali provenienti dalle zone delimitate (per es. frantoi che lavorano olive provenienti da altre regioni) e aree circostanti;
 - o aree con piante sensibili al batterio con sintomi di deperimento ascrivibili alla sintomatologia descritta in bibliografia.

3) Dimensione del campionamento

La dimensione del campione da monitorare e quindi il numero degli ettari, dei siti, delle matrici vegetali e degli insetti vettori da sottoporre a controllo e ad analisi può variare da un anno all'altro. Infatti le mutevoli condizioni climatiche, fitosanitarie, normative possono influire sulla dimensione del campione da sottoporre a controllo.

Il numero di ettari, siti da sottoporre a controllo e il numero di analisi da realizzare viene riportato e aggiornato annualmente sulla base delle esigenze e delle capacità operative del Servizio fitosanitario regionale.

Nel presente piano si riporta la ripartizione prevista per l'anno 2017 per ciascuna delle aree a rischio sopra indicate e il numero di campioni da analizzare, rimandando gli aggiornamenti per le annualità successive ai piani annuali di monitoraggio che saranno approvati con appositi decreti dirigenziali.

TABELLA 1 – PREVISIONE MONITORAGGIO 2017

AREE A RISCHIO		CAMPIONI da analizzare
VIVAI/GARDEN	N°60	N°200
FRUTTETI	ha 350	N°50
ALTRI SITI	N°200	N°500
INSETTI VETTORI	N°200	N°200

Le indicazioni tecniche relative all'esecuzione del monitoraggio, prelevamento e conservazione dei campioni si basano su quanto previsto dalle Linee guida sul monitoraggio e campionamento approvato con DM 7 dicembre 2016 e integrate dalle specifiche esperienze maturate dal Laboratorio di diagnostica fitopatologica del SFR della Regione Toscana e da quanto previsto dalla procedura operativa PRO0-11LAB_Procedura Operativa per il Prelievo Campioni.

4) Periodo di campionamento

La concentrazione del batterio nella pianta infestata dipende da fattori ambientali, dal ceppo di *X. fastidiosa* e dalla pianta ospite, quindi per massimizzare la probabilità di trovare il batterio, si dovrebbe effettuare il campionamento durante il periodo di crescita vegetativa della pianta; questo discorso non vale per le piante tropicali da appartamento che possono venir campionate durante tutto l'anno.

Alcuni esempi di campionamento esaustivo per la presenza della malattia:

10. per *Polygala myrtifolia*: tarda primavera, inizio autunno;
11. per *Olea europea* e *Nerium oleander* i sintomi di appassimento, disseccamento e necrosi delle foglie, sono maggiormente evidenti in estate, ma persistenti durante tutto l'anno. In zone temperate alcuni sintomi vengono individuati anche in inverno, all'inizio della nuova fase vegetativa.
12. Per le piante a foglia caduca i sintomi sono in corrispondenza della presenza del batterio, sulle foglie, durante l'estate; le foglie asintomatiche campionate all'inizio del periodo vegetativo, sulle stesse piante, hanno dato esito negativo.
13. Per le piante in fase di dormienza è necessario campionare la zona xilematica dei rami maturi.

5) Modalità di prelievo dei campioni

La *X. fastidiosa* si localizza nel tessuto xilematico degli ospiti, sul picciolo, e la nervatura centrale della foglia.

- I campioni devono essere formati da rami tagliati con attaccate le foglie.
- Per piante piccole può venir inviata in laboratorio l'intera piantina.
- Per piante con foglie sclerotiche (ad esempio la *Coffea*), possono venire campionati i piccioli.

Tipo di pianta:

- Specie arboree a foglia caduca: per ogni pianta almeno 8 rametti di 15-20 cm con foglie, in alternativa, da settembre in poi, 10-12 foglie mature con picciolo prelevate da rami ben lignificati;
- Specie arboree sempreverdi: per ogni pianta 8 rametti di 15-20 cm con foglie in alternativa 10-12 foglie mature con picciolo prelevate da rami ben lignificati;
- Piante erbacee e specie a ciclo annuale: Porzioni di fusto/cauli con foglie basali; laddove possibile, prelevare l'intera pianta, compresa eventualmente le radici;
- Piante arbustive: Rametti ben lignificati di 15-20 cm con foglie mature.

Si ricorda che i risultati dei test analitici sono fortemente dipendenti dalla qualità e tipologia del materiale vegetale oggetto di indagine. Per cui occorre che i prelievi dei campioni vegetali siano fatti in modo omogeneo e puntuale. Di seguito vengono definiti i parametri minimi legati al tipo di campioni prelevati per il laboratorio per le analisi di verifica.

Tipo di campione	Piante ospiti\tipo di tessuto	Numero minimo di foglie\germogli per il campione da laboratorio	Peso approssimativo del campione da laboratorio
Campioni da piante individuali con foglie	Piccioli\germogli e\o nervature di foglie di grandi dimensioni come <i>Coffea sp.</i> ; <i>Ficus sp.</i> , <i>Vitis sp.</i> , <i>Nerium oleander</i> .	5	0.5-1g
	Piccioli\germogli o nervature di foglie di piccole dimensioni come <i>Polygala myrtifolia</i> e <i>Olea sp.</i>	25	0.5-1 g
	Piante con foglie senza piccioli o con piccoli piccioli e nervature.	25	0.5-1 g
Campioni composti da diverse piante di un singolo lotto con foglie	Campioni di piante asintomatiche prelevate in vivaio, garden e\o impianti produttivi	100-200	10 - 50 g
Piante dormienti o talee	Tessuto xilematico	Non applicabile	0.5-1 g

6) Conservazione e tipologia dei campioni

Una volta prelevati i campioni in campo devono essere mantenuti al fresco fino alla consegna in laboratorio. La consegna dei campioni deve avvenire in tempi rapidi, possibilmente in giornata o al massimo il giorno dopo il prelievo.

7) Tracciabilità dei sopralluoghi effettuati e dei campioni prelevati

Per ogni campione devono essere acquisiti tutti i dati necessari alla tracciabilità:

- numero verbale;
- Numero del nastro sigillo della busta contenente il materiale vegetale da analizzare;
- Data del prelievo;
- Tipologia luogo ispezionato: vivaio, garden, vie di comunicazione, vigneti, oliveti, frutteti (pruneti), seminativi, bosco;
- Indicazione degli Ispettori/Agenti e tecnici campionatori;
- coordinate GPS;
- Specie campionata;

- Presenza sintomi o meno.

8) Modalità di ispezione e prelievo materiale vegetale per analisi

8.1 Vivai, garden e impianti produttivi

8.1.1 Piante sintomatiche

Le indagini visive riguardano esclusivamente la ricerca di sintomi sulle piante sensibili e/o suscettibili. Nel caso dei vivai, garden o impianti produttivi le modalità ispettive devono tenere conto delle indicazioni previste dalla scheda ISPM n. 31 – *Methodologies for sampling of consignement*. In particolare il numero delle piante ispezionate visivamente per la ricerca di sintomi (ovvero come numero minimo di piante ispezionate per lotto) in relazione ad un definito livello presunto di infezione può essere determinato utilizzando le indicazioni fornite dall' ISPM n. 31.

Per le ispezioni di *Xylella fastidiosa* il livello presunto di infezione deve essere il più basso possibile.

Per esempio per lotti di 500 piante andrebbero visionati almeno 300 piante mantenendo un intervallo di confidenza di 99%, (ovvero limitando a solo l'1% di probabilità di avere una infezione sul lotto visionato), per la ricerca di eventuali sintomi riconducibili a *Xylella fastidiosa*. Per lotti di 1000 piante andrebbero visionate almeno 368 piante mantenendo un intervallo di confidenza di 99%, (ovvero limitando a solo l'1% di probabilità di avere una infezione sul lotto visionato), per la ricerca di eventuali sintomi riconducibili a *Xylella fastidiosa*

Si consiglia, comunque per lotti di grandi dimensioni (maggiori di 10.000 unità) di visionare almeno 500 piante.

Viceversa per intervalli di confidenza pari a 99,99% con probabilità di 0,1% di avere una infezione sul lotto da visionare, andrebbero visionate almeno 990 piante per lotti omogenei di 1000 unità.

Dal punto di vista operativo (ovvero come muoversi in un vivaio e/o impianto al fine di verificare la presenza di sintomi) si possono utilizzare schemi diversi, ma si consiglia di muoversi lungo le file alternando uno o due filari a seconda della dimensione del lotto\impianto da visionare.

E' preferibile che il materiale vegetale prelevato da piante sintomatiche, provenga da una singola pianta; comunque è possibile anche prelevare un "campione *pool*" nel caso in cui diverse piante (generalmente non più di cinque) presentino gli stessi sintomi.

Per le (eventuali) piante madri presenti in vivaio e/o di pertinenza del vivaio stesso (possono essere collocate anche in luoghi e sedi diverse):

3. verificare la presenza (e il relativo numero) di piante madri e/o piante di riferimento da cui potenzialmente possono essere prelevate parti vegetali per taleaggio, ecc.
4. verificare la provenienza delle piante madri di cui sopra e in relazione alla tipologia e al numero di piante madri effettuare (se possibile) il prelievo del campione per ogni pianta madre presente.

Indicativamente le eventuali piante madri (distinte per lotto\varietà\coltivazione) presenti vanno campionate tutte. Nel caso in cui ciò non fosse possibile, il numero dei

campioni prelevati per le verifiche analitiche, comunque, non dovrebbe essere inferiore al 10% del numero complessivo delle piante madri presenti e distinte per lotti omogenei. Al riguardo vedasi punto 3.2 della ISPM n. 31 – *Methodologies for sampling of consignment*.

8.1.2. Piante asintomatiche

I campioni per le piante asintomatiche dovrebbero essere rappresentativi dell'intero lotto/areale di piante. Per testare singole piante asintomatiche valgono le considerazioni fatte sulla tipologia di materiale vegetale da prelevare al punto 5.0.

Il numero di campioni da prelevare per indagini di laboratorio, a seconda della dimensione del lotto, può variare dal 2% fino ad un massimo del 10% del numero di piante costituenti il lotto stesso. Al riguardo vedasi il punto 3.2 della scheda ISPM 31 - *Methodologies for sampling of consignment*.

Nel caso di piante asintomatiche può essere previsto il prelievo di campioni pool. La predisposizione di quest'ultimi può avvenire a livello di foglie o di germogli\rametti prelevando campioni di 100-200 foglie (con piccioli)\rametti presi da piante asintomatiche (es. *Coffea*). Il numero di foglie campionabili per lotto può essere determinato sulla base delle direttive della scheda ISPM 31 - *Methodologies for sampling of consignment*.

8.2 Altri siti (strade di grande comunicazione, aree esterne vivai, porti, ecc.)

In questi casi si prendono in considerazione solo le piante sintomatiche tra quelle presenti nell'elenco aggiornato periodicamente dall'EFSA. Per quel che concerne le modalità di prelievo, il tipo di materiale vegetale, periodo di campionamento, ecc. valgono le indicazioni fornite precedentemente per i vivai\garden e impianti produttivi.

9) Campionamento degli insetti vettori

Gli insetti campionati vengono analizzati per la presenza di *X. fastidiosa* tramite PCR REAL TIME.

9.1 Cattura e conservazione

Gli insetti vettori adulti vengono campionati grazie ad apposite reti cattura insetti o per aspirazione o tramite retino entomologico.

Solitamente le trappole adesive non sono attrattive per i vettori di *X.fastidiosa* che possono rimanervi adesi accidentalmente, comunque, data la comodità di utilizzo, in alcuni casi è possibile utilizzarle.

Il periodo di campionamento degli insetti preferibile va dalla tarda primavera all'inizio dell'autunno per massimizzare la probabilità di rilevazione del batterio. Se i campioni non possono venir processati immediatamente dal laboratorio di analisi, si possono conservare in alcool puro (90° minimo).

Il volume di alcool da utilizzare deve essere 30 volte il volume degli insetti; in questa maniera il DNA del batterio rimane inalterato per mesi.