



Giunta Regionale della Campania
 Direzione Generale politiche agricole
 alimentari e forestali
 "Ufficio Centrale Fitosanitario"

REGIONE CAMPANIA

04.2021.0301034 04/06/2021 12,45

: Ufficio Centrale Fitosanitario

: CNR; ISPETTORI FITOSANITARI

ificata : 11.1.5. Fascicolo : 22 del 2021



A tutto il personale del Servizio fitosanitario e del CNR -IPSP coinvolto nel monitoraggio *X. fastidiosa*

Oggetto: Piano di indagine 2021 - Piano URCoFi 2021

Dall'esame dei dati inseriti ad oggi in SIMFito, si evidenzia che sono state inserite molte osservazioni per *Xylella fastidiosa* senza prelievo campione.

Come è noto e come è stato più volte precisato in occasione delle diverse riunioni organizzate per la discussione del Piano 2021, l'articolo 2 del REGOLAMENTO DI ESECUZIONE (UE) 2020/1201 DELLA COMMISSIONE del 14 agosto 2020 relativo alle misure per prevenire l'introduzione e la diffusione nell'Unione della *Xylella fastidiosa* (Wells et al.), sancisce che le indagini consistono nel prelievo di campioni e nella realizzazione di prove sulle piante da impianto.

A differenza della precedente norma di settore sono escluse le indagini visive, probabilmente in quanto la Commissione UE ritiene che in zona libera le indagini vadano effettuate ancor prima della manifestazione dei primi sintomi.

Tale impostazione di indagine è stata lungamente discussa anche all'interno del Gruppo di Lavoro nazionale dei monitoraggi, arrivando sempre alla determinazione, se pur in linea generale non condivisa dai componenti del gruppo, che le indagini si basano esclusivamente sul campionamento e analisi dei campioni mediante una delle analisi molecolari elencate nell'allegato IV dello stesso Regolamento.

Rimane inteso che la gestione dei dati in SIMFito prevede che il prelievo dei campioni debba essere associato ad un'osservazione visiva. D'altra parte, dall'intesa informale, anche con il Ministero, si ritiene comunque opportuno dal punto di vista tecnico registrare le indagini visive associate al prelievo di campioni per le analisi di laboratorio, anche se le osservazioni / indagini visive non sono eleggibili nella rendicontazione del Programma fitosanitario cofinanziato 2021.

Per quanto sopra esposto, tutto il personale del Servizio Fitosanitario regionale e tutto il personale URCoFi coinvolto nel monitoraggio *X. fastidiosa* è tenuto a prelevare almeno un campione per ogni sito ispezionato, anche asintomatico.

Al fine di fornire tutti gli elementi per l'espletamento delle indagini per *X. Fastidiosa* si riporta, in allegato, l'estrapolazione della bozza di "Piano nazionale di emergenza per la gestione di *Xylella fastidiosa* in Italia" di prossima approvazione da parte del Comitato fitosanitario nazionale.

In fine, per garantire una più efficace ed efficiente organizzazione delle attività previste dal Piano di indagine 2021 nonché una più agevole elaborazione di dati SIMFito, anche ai fini della rendicontazione del Programma cofinanziato 2021, si coglie l'occasione per evidenziare quanto segue:

- In linea generale per le indagini 2021, salvo casi particolari riscontrati in sede di ispezione, è **necessario attenersi alle osservazioni per gli organismi nocivi ed ai relativi codici EPPO previsti in SIMFito dalla "banca dati rendicontazione"**; tra essi sono sicuramente inserite le attività di indagine rendicontabili ai fini del cofinanziamento previsto dalla Commissione europea, distinte per classe di priorità (organismo nocivo priorità 1 e priorità 2) reperibile dal Piano di indagine 2021 inserito nella stessa banca dati;
- In fase di inserimento dei dati in SIMFito, anche se consentito dal sistema, è opportuno **non adottare automaticamente la procedura "duplica scheda"** e/o, comunque, **valutare attentamente i dati trascinati con tale operazione** al fine di evitare, per i siti in osservazione, l'inserimento di dati non aggiornati o non allineati a quanto stabilito dal Piano di indagine 2021 (per es. vecchie tipologie di sito, organismi nocivi o codici EPPO non previsti per il 2021, superfici non aggiornate, ecc.).
- Per il prelievo campioni, al fine di consentire il raggiungimento degli obiettivi previsti dal Piano regionale senza gravare le attività del laboratorio fitopatologico regionale, in sede di ispezione è **necessario attenersi, in primis, alle tipologie di campioni previsti dal Piano e, generalmente, al prelievo di campioni asintomatici**, soprattutto se si tratta di indagini per insetti. **Il prelievo di campioni anche asintomatici è necessario fino al raggiungimento degli obiettivi prefissati dal Piano di indagine regionale e provinciale approvato e/o concordato con la scrivente UOD.**

Responsabile PO Attività fitosanitarie

Dott. Raffaele V. Griffo

Responsabile PO Monitoraggi

Dott.ssa Giuseppina Gargiulo

La Dirigente
Dott.ssa Daniela Carella

Documento firmato da:
DANIELA CARELLA
04.06.2021 10:36:33 UTC

5. ATTIVITÀ DI INDAGINE

5.1 Sorveglianza del territorio

Poiché *Xylella fastidiosa* si localizza nel tessuto xilematico degli ospiti, nel picciolo e nella nervatura centrale della foglia, è opportuno operare nel seguente modo:

- i campioni devono essere formati da rami tagliati con attaccate le foglie;
- per piante piccole, può essere inviata in laboratorio l'intera piantina o parte di essa;
- per piante con foglie sclerotiche (ad esempio Coffea), possono essere campionati i piccioli.

In relazione all'elevato numero di campioni potenzialmente oggetto di prelievo, sono utilizzati campioni pool per ciascuna specie vegetale ospite di *Xylella fastidiosa* oggetto della seguente procedura.

Nel caso di piante asintomatiche, la predisposizione di campioni pool può avvenire a livello di foglie o di germogli/rametti prelevando campioni di foglie (con piccioli) /rametti da piante asintomatiche.

I Servizi fitosanitari regionali nell'ambito della verifica periodica annuale dei soggetti iscritti al RUOP o in apposite visite, eseguono le ispezioni visive nei centri aziendali e relativi siti di prima produzione delle 6 specie interessate, prima del loro primo spostamento.

Nel caso di applicazione dell'ISPM 31 per l'esecuzione dell'ispezione, lo schema di campionamento si applica alla consistenza numerica riferita ad un unico insieme costituito da tutte le piante delle sei specie ospiti eventualmente presenti nel centro aziendale di prima produzione, che andrà a costituire il Number of units in lot della tabella ISPM. Nel caso di applicazione del Ribess+ verranno utilizzati come unità epidemiologiche i lotti di piante delle 6 specie e la loro numerosità.

Piante asintomatiche e sintomatiche

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 e definendo la frequenza di prelievo: definire la consistenza numerica del lotto unico, verificare il numero di aliquote da prelevare secondo l'ISPM 31 o secondo il Ribess+, dividere la consistenza/numero di aliquote per ottenere la frequenza di prelievo.

Quanto detto per le piante asintomatiche vale anche per le piante eventualmente sintomatiche presenti in un lotto oggetto di ispezione. Saranno campionate in modo prioritario le piante sintomatiche rispetto alle altre. In questo caso i campioni devono essere relativi alla singola pianta sintomatica e non faranno parte del campione pool. Per soddisfare lo schema di campionamento previsto con un'affidabilità del 80% ipotizzando un livello di presenza di piante infette del 1% (ISPM 31 o Ribess+) i campioni restanti verranno prelevati da piante nelle immediate vicinanze di quelle sintomatiche prelevando campioni pool.

Campi di piante madri

Per i campi di piante madri, CAC e certificati, eventualmente presenti nei centri aziendali, per il campionamento si applicherà sempre l'ISPM 31 o il Ribess+ e l'insieme di campionamento sarà il singolo CPM distinto per specie, in questo caso si camperà ogni singola pianta madre (no campioni pool).

I Centri di Conservazione (CCP) e di Premoltiplicazione (CP) di Olivo e Mandorlo (e se presenti anche per le altre specie) devono saggiare annualmente tutte le piante madri presenti, prima della cessione del materiale di moltiplicazione, con metodi molecolari

Periodo e modalità di campionamento

La concentrazione del batterio nella pianta infestata dipende da fattori ambientali, il campionamento si dovrebbe effettuare durante il periodo di attività vegetativa della pianta.

Per quanto riguarda il periodo e le modalità di campionamento i documenti di riferimento sono:

- EFSA Pest survey card on *Xylella fastidiosa*;
- PM 3/82 (1) Inspection of places of production for *Xylella fastidiosa*.
- PM 7/24 (4) Diagnostic for *Xylella fastidiosa*.

Il campionamento deve essere eseguito da ispettori e agenti fitosanitari o loro incaricati e formati con il supporto del soggetto autorizzato.

Tutte le piante dalle quali vengono prelevati i campioni andranno contrassegnate con fascetta numerata univoca. Nel caso di campione pool sarà sufficiente una fascetta numerata su una delle piante del pool, mentre le altre potranno essere contrassegnate in altro modo. I Campioni dovranno essere inseriti in buste chiuse con sigillo univoco collegabile a quello della fascetta\pianta.

Durante la fase di campionamento deve essere garantita la tracciabilità dei campioni e/o delle aliquote pool prelevate.

I campioni in buste sigillate devono essere inviati a cura degli ispettori fitosanitari o loro incaricati, al laboratorio per le analisi. Di norma i campioni devono essere inviati da parte del Servizio fitosanitario regionale a un laboratorio avente sede nella Regione di competenza dello stesso Servizio fitosanitario regionale.

Solo in caso di indisponibilità di un laboratorio sul territorio regionale ci si dovrà rivolgere a un laboratorio di una Regione limitrofa (questo per evitare il possibile spostamento di campioni positivi da una zona all'altra del territorio nazionale).

Analisi di laboratorio

Le analisi di laboratorio nelle zone indenni sono realizzate utilizzando le metodiche elencate nell'allegato IV del Regolamento (UE) 2020/1201.

Le analisi di I° livello sono eseguite presso i laboratori ufficiali del Servizio fitosanitario nazionale.

Le analisi di II° livello per la diagnosi di conferma sono eseguite presso i seguenti laboratori:

- CREA-DC Centro di Ricerca Difesa e Sperimentazione;
- CNR-IPSP Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante UOS di Bari.

I risultati delle analisi di laboratorio:

- Negativi sono inviati al Servizio fitosanitario regionale e all'operatore e possono permettere l'autorizzazione all'uso del Passaporto delle piante e la conseguente commercializzazione dei vegetali sottoposti a indagine.
- Positivi sono inviati esclusivamente al Servizio fitosanitario regionale che adotta le idonee misure fitosanitarie previste dalla normativa vigente.

5.3 Monitoraggio dei vettori

Considerando che lo scopo di un'indagine territoriale è quello di rilevare la presenza e la diffusione di *Xylella fastidiosa*, tutti gli insetti xilemomizi sono potenzialmente rilevanti per i monitoraggi. Tuttavia, solo tre specie, *Philaenus spumarius*, *Neophilaenus campestris* e *Philaenus italosignus*, sono state accertate come vettori della batteriosi.

La capacità e l'efficienza di acquisizione del batterio da parte dei vettori determineranno la loro rilevanza per la loro sorveglianza. A causa della loro mobilità, gli insetti adulti sono i principali responsabili della diffusione *Xylella fastidiosa* nelle aree ove il batterio sia stato introdotto o sia già diffuso. Inoltre, gli insetti adulti hanno una vita relativamente lunga e pertanto possono essere a lungo portatori di infezione, quindi sono sicuramente gli obiettivi più importanti per i monitoraggi.

Gli adulti generalmente appaiono da primavera e vivono fino all'autunno/inverno. Riportare date conosciute per *Philaenus*.

Il campionamento dei vettori viene effettuato generalmente mediante l'impiego di retini da sfalcio (Cruaud et al., 2018; Cornara et al., 2018), ma anche l'uso di trappole cromotropiche può fornire utili indicazioni sulla presenza degli adulti e sulla dinamica di popolazione (Santoiemma et al., 2019; Cavalieri et al., 2018). Per massimizzare la probabilità di intercettazione di insetti positivi al batterio, gli insetti dovrebbero essere raccolti quando gli adulti sono abbondanti in campo e dopo che si sono nutriti di più ospiti alla fine dell'estate.

Gli insetti adulti raccolti con retino devono essere immediatamente trasferiti in contenitori ermetici contenenti etanolo al 70-80%, univocamente identificati in base al punto di raccolta degli insetti. Dopo la conferma dell'identificazione su base morfologica degli insetti catturati, gli xilemomizi identificati possono essere analizzati immediatamente, oppure trasferiti e conservati in etanolo al 95-99%, oppure a -20°C o -80°C , con o senza etanolo.

In tutte le aree a rischio devono essere monitorate le popolazioni dei vettori; in particolare nelle aree delimitate il monitoraggio dei vettori è mirato alla valutazione della densità di popolazione e al rilievo dei vari stadi di sviluppo degli insetti, al fine di fornire indicazioni utili sulla tempistica di esecuzione degli interventi per il controllo delle forme giovanili e degli adulti, previsti dalla normativa vigente.

Per monitorare le forme giovanili si possono impiegare unità di campionamento (transetti), direttamente appoggiati sulla vegetazione di copertura per circoscrivere facilmente la superficie da esaminare. Per raccogliere i campioni si può applicare un sistema a lavaggi multipli sequenziali (AquaSamPling, Asp) delle erbe raccolte dalla superficie dei transetti. Questo metodo di campionamento quantitativo per flottazione prevede l'uso di una soluzione salina al 9% per lavare energicamente le piante prelevate dal transetto, mandando in sospensione i giovani vettori che vengono trattenuti e filtrando il liquido (Picciotti et al., 2018). Al di là della tecnica di monitoraggio adoperata, l'obiettivo dei rilievi sulle forme giovanili è quello di determinare il periodo in cui si verifica il picco di individui giovani che ha raggiunto il IV stadio di sviluppo; è in corrispondenza infatti di questo picco che l'applicazione di interventi di distruzione della vegetazione di copertura raggiunge la massima efficacia. A tal fine è necessario che i rilievi sulle forme giovanili siano effettuati in maniera costante e periodica (settimanale o bisettimanale) sin dal periodo di schiusura delle uova.

Con riferimento al monitoraggio degli adulti nelle aree delimitate, questo ha lo scopo di identificare il periodo in cui gli adulti, subito dopo lo sfarfallamento, si muovono dalla vegetazione di copertura (insetti non infettivi) alle chiome delle piante arboree dove possono potenzialmente acquisire il batterio e contribuire alla sua successiva diffusione. E' infatti opportuno che i trattamenti per il controllo degli adulti siano effettuati prima che gli stessi possano aver acquisito il batterio, al fine di ridurre quando più possibile la popolazione di insetti che diviene potenzialmente infettiva.

Nelle aree indenni invece il monitoraggio dei vettori (solo forme adulte) affianca quello delle piante: i vettori putativi, raccolti mediante retinatura/trappole in aree definite a rischio per l'introduzione del batterio, vengono poi analizzati mediante diagnosi molecolare per verificare la loro infettività. I campioni di insetti devono essere tutti cartellinati e georeferenziati, infatti, nel caso di positività, sarà effettuato un controllo su materiale asintomatico delle piante specificate di quell'area per verificare la presenza del batterio ed eventualmente definire un nuovo focolaio.

Per l'identificazione tassonomica e la preparazione dei campioni di insetti per le indagini molecolari viene fatto riferimento alle indicazioni fornite da EPPO (PM 7/141 e PM 7/24 (4)).