

**PIANO DI AZIONE PER L'ERADICAZIONE DEL FOCOLAIO DI *XYLELLA FASTIDIOSA*
SUL TERRITORIO DELLA REGIONE TOSCANA**

Indice

<u>4.1 CALENDARIO DI ATTUAZIONE.....</u>	<u>7</u>
<u>5.1 INDAGINI SUGLI INSETTI VETTORI E INTERVENTI DI LOTTA</u>	<u>8</u>
<u>6.1 ANALISI VISIVE E CAMPIONAMENTI DI MATRICI VEGETALI.....</u>	<u>8</u>
<u>6.2 MONITORAGGIO INSETTI VETTORI.....</u>	<u>10</u>
<u>6.3 DIAGNOSI BIOMOLECOLARE DI XYLELLA FASTIDIOSA.....</u>	<u>10</u>

1. NORMATIVA DI RIFERIMENTO

Direttiva CE n. 2000/29 dell'8 maggio 2000 *'concernente le misure di protezione contro l'introduzione nella Comunità di organismi nocivi ai vegetali o ai prodotti vegetali e contro la loro diffusione nella Comunità'*

Reg. (UE) n. 2016/2031 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 26/10/2016 relativo alle misure di protezione contro gli organismi nocivi per le piante ;

Allegato II del Reg. (UE) n. 2016/2031;

D.Lgs. 19 agosto 2005 n. 214 e n. 84 del 9 aprile 2012 di attuazione della Direttiva 2002/89/CE concernente le misure di protezione contro l'introduzione e la diffusione nella Comunità di organismi nocivi ai vegetali o ai prodotti vegetali;

L.R. n. 64 del 29 novembre 2011 di disciplina del Servizio Fitosanitario Regionale;

Vista la L.R. n. 25 del 6 giugno 2012 che modifica la L.R. 29 novembre 2011 n. 64;

Decisione di esecuzione (UE) 2015/789 del 18 maggio 2015, relativa alle misure per impedire l'introduzione e la diffusione nell'Unione Europea della *Xylella fastidiosa* e successive modifiche e integrazioni

Decisione (UE) 2017/2352 e Decisione (UE) n. 2018/1511 che modificano la decisione di esecuzione (UE) 2015/789 e che prevedono ulteriori prescrizioni atte preservare le aree indenni dalla introduzione e diffusione del batterio;

Decreto MiPAAF del 13 febbraio 2018 e ss.mm.ii. "Misure di emergenza per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di *Xylella fastidiosa* (Well e Raju) nel territorio della Repubblica italiana" che contiene in allegato il Piano di emergenza nazionale per la gestione di *Xylella fastidiosa* e le Linee guida sul monitoraggio e il campionamento di specie vegetali in zone indenni ;

Decreto MiPAAFT del 5 ottobre 2018 che modifica il Decreto del 13 febbraio soprarichiamato in particolare per quanto riguarda le linee guida per il contenimento degli insetti vettori nelle zone delimitate per *Xylella fastidiosa*;

DECRETO MiPAAFT 7 febbraio 2019 "Modifica del decreto 13 febbraio 2018 concernente le misure di emergenza per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di *Xylella fastidiosa* (Well et al .) nel territorio della Repubblica italiana;

DGR n. 475 del 9/5/2017 relativa al Piano regionale di attuazione del Piano nazionale di emergenza per la gestione di *Xylella fastidiosa* in Italia che approva anche il Piano di monitoraggio e sorveglianza per rilevare l'eventuale presenza in Toscana del patogeno *Xylella fastidiosa*;

Delibera GR n. 1463 del 17 dicembre 2018 Approvazione del Piano di azione per l'eradicazione del focolaio di *Xylella fastidiosa* sul territorio della regione Toscana

Decreto Dirigenziale n.20621 del 20 dicembre 2018 Delimitazione della zona infetta e della zona cuscinetto per *Xylella fastidiosa* a Monte Argentario

Decreto Dirigenziale n. 7809 del 06/6/2017 Approvazione della "Composizione del tavolo tecnico scientifico" per l'emergenza *Xylella fastidiosa* e revoca dei Decreti Dirigenziali n. 6070/2014 e n. 5804/2016

2.INTRODUZIONE

Il presente 'Piano di azione' è redatto in base a quanto previsto dalla normativa unionale, nazionale e regionale, in conformità a quanto stabilito all'articolo 16 della citata Direttiva CE n. 2000/29 e all' art. 27 del Reg. (UE) n. 2016/2031 sopra richiamato. Il Piano ha la finalità di definire le modalità di attuazione delle attività di indagine e monitoraggio nella zona delimitata (zone infette e zona cuscinetto), e delle misure di eradicazione nelle zone infette (zone focolaio), in modo da garantire una risposta rapida, efficace e coordinata al primo ritrovamento del patogeno *Xylella fastidiosa* nel territorio della regione Toscana.

Xylella fastidiosa, è considerata uno dei principali problemi fitosanitari a livello europeo a causa della capacità di infettare un numero molto elevato di specie vegetali e della sua possibilità di diffusione creando un impatto sul territorio sia economico sui settori produttivi che un impatto ambientale, paesaggistico e culturale.

Le informazioni di base sul patogeno e sugli insetti vettori sono riportate negli allegati al Decreto MiPAAF 13 febbraio 2018 e e ss.mm.ii., l'elenco completo delle piante specificate note per essere sensibili al batterio è riportato nell'allegato I della Decisione UE 2015/789 e e ss.mm.ii. , la lista aggiornata delle specie ospiti è consultabile nella banca dati della Commissione europea all'indirizzo:

https://ec.europa.eu/food/plant/plant_health_biosecurity/legislation/emergency_measures/xylella-fastidiosa/susceptible_en.

La Toscana è sempre stata considerata una regione ad alto rischio in base alla sua posizione geografica. Risulta infatti baricentrica rispetto ai focolai di Xf presenti in Corsica, nella regione PACA della Francia, in Spagna, nelle isole Baleari e in Puglia ed a seguito del grande movimento di merci, persone e mezzi di trasporto provenienti dalle zone infette.

Al fine di verificare lo stato fitosanitario del territorio regionale, dal 2014 fino ad oggi sono state svolte specifiche campagne annuali 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 svolte nelle aree potenzialmente a maggior rischio individuate al paragrafo 2) dell'allegato A della Delibera G.R. n. 475/2017 (Piano di monitoraggio per Xf), fra cui i punti di entrata (porto di Livorno, aeroporto di Pisa) e i punti di transito (aeroporti di Firenze e Grosseto, interporto di Prato, porti passeggeri di Livorno, Piombino, Porto Santo Stefano, Carrara) e aree circostanti.

Nel 2018 l'attività di monitoraggio che si è svolta sul territorio regionale ha purtroppo portato all'individuazione di alcune piante infette in Comune di Monte Argentario in località vicine all'abitato di Porto Santo Stefano.

La conferma ufficiale della presenza del batterio nei campioni prelevati sul territorio del Comune di Monte Argentario (Provincia di Grosseto, all'estremo sud della Toscana) è pervenuta il 6 dicembre 2018 da entrambi i laboratori accreditati a livello nazionale per la conferma delle analisi di *Xylella fastidiosa* (CREA-DC di Roma e il CNR-IPSP di Bari).

In data 18 dicembre, il Dipartimento di Scienze Produzioni Agroalimentari e dell'Ambiente dell'Università di Firenze ha confermato che il batterio presente nei campioni analizzati appartiene alla sottospecie '*Multiplex*', diversa da quella presente in Regione Puglia. Al momento non sono stati trovati olivi infetti o altre piante di interesse agrario.

Il 17 dicembre u.s. la Giunta regionale della Regione Toscana ha approvato il primo 'Piano di azione per l'eradicazione del focolaio di *Xylella fastidiosa* sul Monte Argentario'; il piano contiene le misure di eradicazione e di sorveglianza ai sensi delle norme nazionali e dell'Unione europea.

Il 20/12/2018 con Decreto Dirigenziale n.20621 è stata approvata la cartografia riportante la zona delimitata per *Xylella fastidiosa*, sottospecie 'Multiplex' a Monte Argentario, formata da una zona infetta e da una zona cuscinetto.

Il presente piano di azione ai sensi dell'art. 27 del Reg. UE n. 2016/2031 aggiorna il precedente approvato il 17/12/2018 e contiene le misure di eradicazione, unitamente alla descrizione della metodologia da applicare per le indagini ed il monitoraggio nelle zone infette e nella zone cuscinetto; contiene inoltre un calendario di attuazione delle operazioni e stabilisce i numeri degli esami visivi, dei campioni delle matrici vegetali e dei potenziali vettori e il numero minimo delle analisi di laboratorio da effettuarsi.

In tutte le fasi di indagine e campionamento deve essere utilizzata l'apposita applicazione 'FitoSIRT', messa a punto dal Servizio fitosanitario regionale (SFR) per tracciare le attività svolte.

3.DELIMITAZIONI

La sottospecie 'multiplex' del batterio '*Xylella fastidiosa*' rinvenuta in Toscana attacca un gran numero di specie vegetali, dal punto di vista normativo, si parla di piante ospiti¹ e di piante specificate²; il numero delle prime e delle seconde è in continuo aumento a seguito dei ritrovamenti di nuove specie attaccate da Xf.

Le delimitazioni previste dal citato DM 13/2/2018 sono le seguenti:

a) *la zona infetta comprende tutte le piante che risultano* contagiate dall'organismo specificato, tutte le piante che presentano sintomi tali da indicare la possibile infezione da parte dell'organismo specificato e tutte le altre piante che possono essere contagiate da tale organismo a causa della loro vicinanza alle piante contagiate o perché provenienti da un luogo di produzione comune, se noto, a quello delle piante contagiate, o perché trattasi di piante ottenute da queste ultime;

b) *la zona cuscinetto comprende un raggio di almeno 5 km oltre i confini della zona infestata.*

Nel caso del focolaio di Monte Argentario (GR), la delimitazione delle zone infette è stata definita ufficialmente con Decreto Dirigenziale n. 20621 del 20/12/2018.

Con tale atto sono stati inseriti nella zona infetta il punto dove sono state rinvenute le singole piante infette ed una porzione di territorio compresa nei 100 metri di raggio dal punto dove si trova la pianta infetta, in tale zona saranno effettuate le indagini intensive e le operazioni di eradicazione.

Sul territorio di Monte Argentario risultano ad oggi 29 zone infette contenenti le 72 piante infette già rinvenute e la porzione di territorio compresa nei 100 metri dal punto

¹Ai sensi del DM 13/2/2018: "*vegetali **destinati alla piantagione**, ad eccezione delle sementi, appartenenti ai generi o alle specie enumerati nella banca dati della Commissione delle piante ospiti sensibili alla *Xylella fastidiosa* nel territorio dell'Unione, in quanto risultate sensibili nel territorio dell'Unione all'organismo specificato oppure, se uno Stato membro ha delimitato una zona in relazione solo a una o più sottospecie dell'organismo specificato a norma dell'art. 7, comma 1, in quanto risultate sensibili a quella o quelle sottospecie*";

² Ai sensi del DM 13/2/2018: '*piante ospiti e tutti i **vegetali destinati alla piantagione**, ad eccezione delle sementi, appartenenti ai generi o alle specie enumerate nell'allegato I al DM stesso*';

dove esse si trovano. La superficie totale delle zone infette è di circa **135** Ha, la superficie della zona cuscinetto è di Ha 6.780. Chiaramente le delimitazioni della zona infetta e della zona cuscinetto potrebbero essere modificate nel caso di rinvenimento di altre piante infette.

4. MISURE DI ERADICAZIONE NELLA ZONA INFETTA

Ai sensi dell'art 9 del D.M. del 13 febbraio 2018 (art. 6 Dec. UE n. 789/15), il SFR adotta immediatamente tutte le misure fitosanitarie necessarie per eradicare il focolaio dell'organismo nocivo *Xylella fastidiosa* dalla zona interessata.

L'attività di eradicazione si sviluppa in tre fasi:

I) In prima battuta, per abbassare velocemente il potenziale di inoculo, devono essere individuate e contrassegnate per la rimozione:

- le piante risultate sicuramente infette a seguito delle analisi effettuate sui campioni da esse prelevate;
- le piante sintomatiche o sospette, situate nei pressi di quelle infette, appartenenti ai generi ed alle specie risultate colpite con maggior frequenza dall'organismo nocivo nel focolaio di Monte Argentario o che presentano sintomi evidenti riconducibili alla possibile presenza di Xf;
- le piante ospiti, così come definite dall'art. 2. comma 2 del D.M. MiPAAF del 13/2/2018 (art. 1 Dec. UE n. 789/15).

II) Ai sensi del comma 4 dell'art. 9 del D.M. 13 febbraio 2018 (Art. 6.3 Dec. UE n. 789/15), il SFR esegue il campionamento e l'esame delle piante specificate nel raggio di 100 m attorno a ciascuna delle piante infette, conformemente alla norma internazionale per le misure fitosanitarie ISPM 31 e seguendo le apposite Linee guida messe a punto dal SFR.

III) Il Servizio fitosanitario regionale, entro un raggio di 100 m attorno alle piante che sono state esaminate e sono risultate infette dall'organismo specificato, dispone e controlla la rimozione immediata di:

- a) piante ospiti, indipendentemente dal loro stato di salute;
- b) piante infette dall'organismo specificato;
- c) piante che presentano sintomi indicativi della possibile infezione da parte di tale organismo o sospettate di essere infette da tale organismo.

La distruzione delle piante o delle parti di piante deve essere effettuata *in situ* o in un luogo vicino designato a tal fine all'interno della zona infetta. In tutta l'area interessata dalle rimozioni vigono vincoli ambientali, idrogeologici e paesaggistici, per cui, in alternativa all'estirpazione, la pianta può essere tagliata al colletto e successivamente devitalizzata con prodotti fitosanitari a base di Fluroxipir meptil puro + Triclopir trietilammonio puro. Dovunque sia possibile, il materiale di risulta deve essere lasciato in situ dopo il trattamento di triturazione.

Prima della rimozione delle piante è prevista l'esecuzione di trattamenti fitosanitari contro gli insetti vettori dell'organismo specificato, con prodotti a bassa tossicità.

Le attività di trattamento con prodotti fitosanitari, rimozione e distruzione delle piante saranno svolte da soggetti esterni incaricati con le procedure contrattuali previste dalla Regione Toscana e sotto il diretto controllo del Servizio Fitosanitario regionale.

4.1 CALENDARIO DI ATTUAZIONE

I primi interventi di eradicazione dei focolai rinvenuti nel territorio del Comune di Monte Argentario sono iniziati il 17/1/2019 con i sopralluoghi per l'individuazione delle piante ospiti, sintomatiche o sospette da rimuovere; le operazioni di rimozione delle 72 piante rinvenute infette nel corso del monitoraggio intensivo svolto nel 2018 e delle quasi 500 piante ospiti, sintomatiche o sospette contigue si sono concluse il 5/4/2019.

Le operazioni di indagine nelle zone infette sono iniziate il 1/4/2019 e si prevede che si concluderanno entro il mese di giugno 2019.

Le operazioni di eradicazione si concluderanno entro il dicembre del 2020, compatibilmente con l'eventuale rinvenimento di ulteriori focolai.

5.INDAGINI NELLA ZONA INFETTA

Nella prima fase di eradicazione (fase I), devono essere prelevati campioni (singoli o pool monospecifici) su tutte le piante destinate alla rimozione. La individuazione delle piante, il prelievo dei campioni e le registrazioni su FitoSIRT devono essere effettuati prima delle operazioni di rimozione delle piante stesse; l'attività è svolta dagli ispettori e agenti fitosanitari incaricati delle azioni di eradicazione, tenendo conto delle linee guida per il prelievo dei campioni vegetali messe a punto dal SFR.

In una fase immediatamente successiva (fase II) nella zona infetta il SFR esegue il campionamento e l'esame delle piante specificate nel raggio di 100 m attorno a ciascuna delle piante infette, conformemente alla norma internazionale per le misure fitosanitarie ISPM 31 e seguendo le apposite Linee guida messe a punto dal SFR stesso. Al fine di consentire un elevato dettaglio territoriale delle ispezioni e dei campionamenti in un territorio estremamente variabile da punto di vista orografico e di elevatissima densità floristica, ciascuna zona infetta viene suddivisa in quadranti della dimensione di m. 25 x 25 di lato (per una superficie di 625 mq.) ciascuno dei quali rappresenta la sub unità nella quale realizzare le ispezioni visive e il campionamento. Tutti i quadranti sono numerati. Sono da prendere in considerazione solo quelli ricadenti per intero nella zona infetta, pertanto una media di 44 quadranti per area infetta. Questo numero può ridursi in base alla inaccessibilità dei quadranti per motivi orografici, fisici o di accessibilità. Si procede quindi con le ispezioni visive ed il campionamento delle piante specificate, effettuando possibilmente per ogni quadrante le seguenti operazioni:

- esame di tutte le piante specificate presenti nel raggio di 3 metri da un punto posizionato all'interno di un dato quadrante (area di saggio), devono essere individuati, per ciascuna specie, gli individui asintomatici, sintomatici o sospetti, perché appartenenti a specie ad alto rischio;
- prelievo di almeno un campione da analizzare, in caso di presenza di più specie di piante specificate, è possibile prelevare più campioni.

Considerando che le 29 zone infette sono state ripartite in circa 1900 quadranti, ipotizzando una media di 3 campioni per quadrante si prevede di prelevare un totale di circa 5700 campioni.

Il Servizio fitosanitario regionale controlla la presenza dell'organismo specificato tramite ispezioni, tenendo conto della metodologia e degli orientamenti tecnici per le ispezioni di *Xylella fastidiosa* riportati sulle "Linee guida per ispezione e campionamento nell'area delimitata (zone infette e zona cuscinetto) del focolaio di *Xylella fastidiosa* di Monte Argentario (GR)" definite dal Servizio stesso.

Le attività svolte dal personale SFR, sono iniziate nel mese di aprile 2019 e si prevede di completarne la realizzazione delle indagini entro la fine del mese di maggio 2019.

I campioni prelevati nella zona infetta sono portati al laboratorio di prima lavorazione dei campioni che è stato allestito a Porto Santo Stefano (Comune di Monte Argentario, GR), all'interno della zona delimitata.

5.1 INDAGINI SUGLI INSETTI VETTORI E INTERVENTI DI LOTTA

Contestualmente all'attività di ispezione sulle matrici vegetali, in 3 aree di saggio all'interno di 3 zone infette precedentemente individuate si procede alle indagini sui potenziali insetti vettori, (*Philaenus spumarius*, *Cicadella viridis*, *Neophilaenus campestris*, *Euscelis lineolatus* e altri emitteri appartenenti alle seguenti famiglie: *Aphrophoridae*, *Cercopidae*, *Cicadellidae*), con campionamento e analisi di laboratorio.

Le procedure di monitoraggio, di prelevamento campioni e di analisi di laboratorio adottate sono quelle previste:

- nel Decreto MIPAAF 13 febbraio 2018 e ss.mm.ii e nei relativi allegati ("Misure di emergenza per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di *Xylella fastidiosa* nel territorio della Repubblica italiana");
- nella Nota MIPAAF del 9 novembre 2015 n. 23445 riguardante "Linee guida sul monitoraggio e campionamento specie vegetali ai fini dell'identificazione di *Xylella fastidiosa* in zone indenni", tenendo inoltre conto di quanto emerso negli aggiornamenti dei Ring Test nazionali e di quanto previsto nell'ISPM 7.

Il campionamento annuale di insetti tramite retinatura consiste nel prelievo di almeno **180** insetti catturati in 3 aree di saggio precedentemente individuate in zone infette.

Gli insetti catturati devono essere identificati, individuandone il genere e, se possibile, la specie e poi analizzati per verificare se possono essere potenziali vettori di Xf.

Le indagini ed il campionamento sono svolti nel periodo aprile – ottobre.

La lotta agli insetti vettori si presenta problematica, perché nella zona infetta non sono presenti aree agricole ma solo giardini, terreni incolti o zone a vegetazione spontanea.

E' in corso di valutazione l'opportunità e la possibilità di effettuare trattamenti estensivi con insetticidi sul territorio delle zone delimitate, in particolare contro *Philaenus spumarius* e *Neophilaenus campestris*.

6. ISPEZIONI ANNUALI NELLA ZONA CUSCINETTO

6.1 ANALISI VISIVE E CAMPIONAMENTI DI MATRICI VEGETALI

Nella zona cuscinetto il Servizio fitosanitario regionale controlla la presenza dell'organismo specificato tramite ispezioni annuali, tenendo conto della metodologia e degli orientamenti tecnici per le ispezioni di *Xylella fastidiosa* riportati sulle "Linee guida

per ispezione e campionamento nell'area delimitata (zone infette e zona cuscinetto) del focolaio di *Xylella fastidiosa* di Monte Argentario (GR)" stabilite dallo stesso SFR. Devono essere effettuate ispezioni visive delle piante specificate e campionamento e analisi delle piante sintomatiche, nonché delle piante asintomatiche in prossimità di quelle sintomatiche.

Ai sensi dell'art 9 comma 8 del DM MiPAAF del 13/2/2018, la zona cuscinetto è così suddivisa:

- La superficie che circonda le zone infette, definita da un raggio di 1 Km, in quadranti di 100 m × 100 m di lato ;

- La superficie della restante parte della zona cuscinetto (4 km), che circonda le zone infette, in quadranti di 1 km × 1 km di lato.

Si prevede che l'attività sarà svolta per almeno cinque anni, fino all'anno 2024 compreso.

•**Quadranti 100 x 100**

L'area sottesa ad un cerchio con un raggio di 1 km attorno alle piante risultate infette è suddivisa da una griglia formata da quadrati di 100 m × 100 m di lato. In totale risultano **circa 4500** quadranti.

Al fine di consentire un elevato dettaglio territoriale delle ispezioni e dei campionamenti in un territorio estremamente variabile da punto di vista orografico e di elevatissima densità floristica, si prevede la concentrazione delle indagini in un'area di saggio con raggio di 5 metri (superficie circa 78,5 mq), individuata possibilmente al centro di un quadrato composto da 4 quadranti da 100 m di lato oppure, ove non possibile per ragioni oggettive, posizionata in base ai criteri del campionamento di opportunità/convenienza (ISPM 31). Si prevede di rilevare circa **1.100** aree di saggio.

All'interno delle aree di saggio deve essere effettuato il controllo visivo delle piante specificate e devono essere prelevati campioni dalle piante che presentano sintomi evidenti riconducibili alla possibile presenza di *Xylella fastidiosa*, oppure su piante sospette appartenenti ai generi ed alle specie con una classe di rischio maggiore rispetto alla probabilità di essere infette da *Xylella fastidiosa*. Nel caso di presenza di più piante contigue appartenenti alla stessa specie possono essere prelevati campioni pool fino ad un massimo di 5 piante nel caso piante, arboree oppure fino ad un massimo di 8 nel caso di piante erbacee o arbustive. Si prevede si prelevare almeno 3 campioni in ogni singola area di saggio, per un totale di almeno **3.300** campioni.

•**Quadranti 1000 x 1000**

Nella zona cuscinetto, l'area sottesa ad un cerchio con un raggio di 5 km attorno alle piante risultate infette e compresa fra 1 e 5 Km viene suddivisa da una griglia formata da quadranti di 1 Km × 1 Km di lato, per un totale di circa 48 quadranti. Al fine di consentire un elevato dettaglio territoriale delle ispezioni e dei campionamenti in ciascun quadrante si prevede la concentrazione delle indagini in 3 aree di saggio del diametro di 5 metri (superficie circa 78,5 mq ciascuna, per un totale di circa 235,5 mq in ciascun quadrante delle griglia), individuate in base ai criteri del campionamento della convenienza (ISPM31).

In ciascuna area di saggio delle zone cuscinetto devono essere effettuate le ispezioni visive ed il campionamento delle piante specificate prelevando almeno tre campioni da analizzare, in caso di presenza di più specie di piante specificate, è possibile prelevare più campioni.

Le ispezioni visive per quadranti di 1 km x 1 km devono essere almeno **144** (48 quadranti con 3 aree di saggio ciascuna e n. 1 ispezione visiva per area di saggio) con circa **430** campioni prelevati per le analisi di laboratorio.

Le indagini e campionamenti sono svolte nel periodo nei mesi da Maggio a Novembre di ciascun anno.

Nel caso di individuazione di campioni positivi alla analisi molecolare, al fine di arrivare ad una più precisa delimitazione della nuova zona infetta può essere necessario prelevare ulteriori campioni *random* nelle aree circostanti all'area di saggio.

Le attività di indagine e campionamento sono svolte da soggetti esterni incaricati con le procedure contrattuali previste dalla Regione Toscana e sotto il diretto controllo del Servizio Fitosanitario regionale.

6.2 MONITORAGGIO INSETTI VETTORI

Contestualmente all'attività di ispezione delle matrici vegetali, in 3 aree di saggio all'interno dell'area cuscinetto si procede al monitoraggio dei potenziali insetti vettori (*Philaenus spumarius*, *Cicadella viridis*, *Neophilaenus campestris*, *Euscelis lineolatus* e altri emitteri appartenenti alle seguenti famiglie: *Aphrophoridae*, *Cercopidae*, *Cicadellidae*) agenti della trasmissione del batterio *Xylella fastidiosa* con campionamento e analisi di laboratorio.

Le procedure di monitoraggio, di prelevamento campioni e di analisi di laboratorio adottate sono quelle previste:

- nel Decreto MIPAAF 13 febbraio 2018 e ss.mm.ii e nei relativi allegati ("Misure di emergenza per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di *Xylella fastidiosa* nel territorio della Repubblica italiana");
- nella Nota MIPAAF del 9 novembre 2015 n. 23445 riguardante "Linee guida sul monitoraggio e campionamento specie vegetali ai fini dell'identificazione di *Xylella fastidiosa* in zone indenni", tenendo inoltre conto di quanto emerso negli aggiornamenti dei Ring Test nazionali e di quanto previsto nell' ISPM 7.

Il campionamento di insetti tramite retinatura deve essere almeno di n. 180 insetti catturati in 3 zone cuscinetto individuate precedentemente. Il numero delle analisi di laboratorio corrisponde alla somma del numero dei campioni prelevati.

Gli insetti catturati devono essere identificati, individuandone il genere e, se possibile, la specie e poi analizzati per verificare se possono essere potenziali vettori di Xf.

Le indagini e campionamenti sono svolte nel periodo periodo aprile – ottobre di ciascun anno.

6.3 DIAGNOSI BIOMOLECOLARE DI XYLELLA FASTIDIOSA

Le analisi per la verifica della presenza del batterio, sia in aree infette sia nelle aree cuscinetto, vengono effettuate presso il laboratorio di diagnostica fitopatologica e di biologia molecolare di Pistoia utilizzando le metodologie previste dalle linee guida EPPO tramite lo standard PM7/24.

Nello specifico le analisi biomolecolari sono incentrate sui due metodi:

- Real Time PCR con Sonda TaqMan (Harper et al., 2010)
- Real time PCR con chimica SybrGreen (Francis et al., 2006).

7.INDAGINI SULL'ORIGINE DEL FOCOLAIO DI XYLELLA FASTIDIOSA A MONTE ARGENTARIO

Ai sensi dell'art. 17 del Reg. UE n. 2016/2031 il Servizio Fitosanitario Regionale indaga senza indugio sull'origine della presenza di *Xylella fastidiosa* nell'area delimitata, in particolare per accertare se tale presenza può essere messa in relazione a spostamenti di piante, prodotti vegetali o altri oggetti, e sulla possibilità che l'organismo nocivo in questione sia stato diffuso ad altre piante, prodotti vegetali o altri oggetti attraverso tali spostamenti.

Il Servizio fitosanitario regionale inoltre effettua adeguate indagini per individuare l'origine dell'infezione, rintraccia le piante specificate associate ai casi di infezione in questione, comprese quelle che siano state eventualmente spostate prima della definizione della zona delimitata. I risultati di tali indagini sono comunicati ai Servizi fitosanitari regionali competenti rispettivamente per il territorio dal quale provengono le piante in questione, per il territorio attraversato, nonché per il territorio in cui tali piante sono entrate, informando anche il Servizio fitosanitario centrale.

Il Servizio fitosanitario regionale adotta qualsiasi altra misura in grado di contribuire all'eradicazione dell'organismo specificato, tenendo conto della norma ISPM³ n. 9 e applicando un approccio integrato, secondo i principi stabiliti nella norma ISPM n. 14.

Contemporaneamente il Servizio fitosanitario promuove indagini scientifiche per individuare la sottospecie e la caratterizzazione genetica del batterio, oltre che della sua capacità di diffusione e di resistenza nelle piante tagliate e/o sottoposte a triturazione/cippatura.

Sono previste anche indagini sulla eventuale capacità degli insetti xilomizi presenti nelle zone infette di acquisire il batterio e di veicolare l'infestazione.

8.CONTROLLO SPOSTAMENTO PIANTE

E' vietato lo spostamento all'esterno delle zone delimitate, e dalle zone infette verso le rispettive zone cuscinetto, di piante specificate che sono state coltivate per almeno parte del loro ciclo vitale in una zona delimitata. (art. 12 DM 13/2/2018).

E' vietato il prelievo e il trasporto al di fuori delle zone delimitate di piante specificate o loro porzioni e il trasporto/spostamento di insetti vettori.

Il Servizio fitosanitario regionale dispone rigorose misure per la gestione dei rifiuti verdi prodotti nelle zone delimitate.

Date le modalità di diffusione di *X. fastidiosa* su esposte, risulta evidente che il trasferimento degli insetti vettori da zone infette ad altre zone può avvenire anche in modo passivo, attraverso mezzi indiretti come:

- indumenti o parti del corpo delle persone, su cui può aderire il vettore, durante lo stazionamento in campi o giardini;
- mezzi meccanici di trasporto.

³ INTERNATIONAL STANDARDS FOR PHYTOSANITARY MEASURES

Pertanto nelle zone delimitate è necessario assicurarsi di non avere sugli abiti e sulle scarpe insetti vettori prima di allontanarsi o di risalire sul mezzo di trasporto.

È vietato l'impianto di piante ospiti nelle zone infette, salvo per i siti che sono protetti fisicamente contro l'introduzione dell'organismo specificato da parte dei suoi vettori.

Al fine di informare il pubblico e gli operatori professionali delle misure disposte, il Servizio fitosanitario regionale dispone l'installazione di una segnaletica stradale che identifica i confini della zona delimitata.

9. INFORMAZIONE E PUBBLICITÀ

Il Servizio fitosanitario regionale sensibilizza il pubblico e gli operatori professionali in merito alla minaccia costituita dall'organismo specificato, nonché in merito alle misure adottate per impedirne l'introduzione e la diffusione nell'Unione.