NORME PRATICHE DI CAMPIONAMENTO E TRASPORTO DI SEMI E FOGLIE DI MAIS E SOIA PER LA DETERMINAZIONE DEGLI ORGANISMI GENETICAMENTE MODIFICATI (OGM)

Campionamento semente

1. Nel caso di campioni di semente o granella di Mais e Soja destinati all'analisi degli Organismi Geneticamente Modificati (OGM) si può fare riferimento ai seguenti Decreti ministeriali e raccomandazioni della CE che forniscono le quantità da campionare in funzione dei protocolli di analisi e della dimensione del lotto:

   - D.M. 22/12/1992 "Metodi ufficiali di analisi delle sementi" pubblicato sulla G.U. 4/1/1993 Suppl. n. 2, relativo ai metodi di campionamento per il controllo ufficiale delle sementi.

   - D.M. 27 novembre 2003 "Campagna di semina " Modalità di controllo delle sementi di mais e soia per la presenza di OGM, che fissa i metodi di campionamento e di analisi per i controlli ufficiali degli OGM nelle sementi secondo il protocollo tecnico ENSE .

   - Raccomandazione della commissione (2004/787/CE) del 4 ottobre 2004.

2. La quantità minima di materiale vegetale, sia sotto forma di semente sia di granella, da consegnare al laboratorio è di 3000 semi che generalmente, sia nel caso del Mais che della Soja, sono contenuti in una quantità di 1 Kg.

3. Si raccomanda di impiegare contenitori puliti e, nel caso di campioni ufficiali, di etichettare o identificare in modo univoco e chiaro i diversi campioni. Quest'ultima prescrizione è facoltativa nel caso di campioni singoli forniti da privati.

Campionamento foglie

Nel caso di campioni di foglie o altre parti verdi della pianta di Mais e Soja destinati all'analisi degli Organismi Geneticamente Modificati (OGM) ai sensi del Decreto 8 novembre 2017 - Piano generale per l'attività di vigilanza sull'emissione deliberata nell'ambiente di organismi geneticamente modificati, si può fare riferimento ai protocolli emanati dal MASE per le singole specie vegetali in applicazione del sopracitato decreto che forniscono le quantità da campionare in funzione dei protocolli di analisi e della dimensione dell'appezzamento oggetto di ispezione ufficiale.

Trasporto

La presente Procedura descrive le modalità di trasporto da adottare durante le operazioni di campionamento di sementi e foglie di Mais e Soja per l'effettuazione di analisi OGM al fine di prevenire i fenomeni di contaminazione incrociata durante il trasferimento dei campioni fino al laboratorio:

1. Campioni di semente e foglie raccolti per analisi ufficiali

- I campioni da sottoporre ad analisi sono raccolti e conservati in un sacchetto di plastica che viene sigillato con apposito filo di ferro, spago di corda bloccati con sigillo di ferro o fascetta di plastica sigillante e a cui va allegata l'etichetta dell'Ente campionatore contenente le informazioni relative all'anagrafica del campione, riportate anche nel verbale di prelievo e campionamento.
- L'etichetta è di plastica robusta preferibilmente con anello di metallo per ridurre il rischio di rottura accidentale e conseguente distacco della stessa o integrata nella fascetta di plastica in un corpo unico.
- Il sacchetto è di plastica robusta, resistente ad urti accidentali che potrebbero provocare la rottura del sacchetto.
- Al fine di ridurre al minimo il rischio di rotture accidentali e fenomeni di contaminazione incrociata i sacchetti sigillati contenenti il campione possono essere ulteriormente chiusi in un secondo sacchetto di plastica robusta più grande. Tutti i campioni di semente così raccolti sono posizionati in contenitori di plastica rigida, con coperchio fissabile al contenitore.
- I contenitori di plastica rigida sono dedicati esclusivamente al trasporto di questa tipologia di campioni e sono mantenuti puliti e asciutti rispetto a polveri ed altri agenti contaminanti.
- Il materiale sementiero deve essere raccolto asciutto e mantenuto in condizioni di temperatura ambiente, fino al conferimento al laboratorio di diagnosi, che deve avvenire nel più breve tempo possibile e comunque entro 96 ore dalla data del prelievo.
- Il materiale fogliare invece va conservato in frigoriferi portatili provvisti di pani di ghiaccio per mantenere la temperatura al di sotto dei 10°C, fino al conferimento al laboratorio di diagnosi, che deve avvenire nel più breve tempo possibile e comunque entro 72 ore dalla data del prelievo.

2. Campioni raccolti da privati

- I campioni di semente da sottoporre ad analisi sono raccolti e conservati in un sacchetto di plastica robusta, resistente ad urti accidentali che potrebbero provocare la rottura del sacchetto, opportunamente chiuso, preferibilmente con apposito filo di ferro o spago di corda, per evitare fuoruscite accidentali di semente.
- Al fine di ridurre al minimo il rischio di rotture accidentali e fenomeni di contaminazione incrociata i sacchetti contenenti il campione possono essere ulteriormente chiusi in un secondo sacchetto di plastica robusta più grande.

- Il materiale sementiero deve essere raccolto asciutto e mantenuto in condizioni di temperatura ambiente, fino al conferimento al laboratorio di diagnosi, che deve avvenire nel più breve tempo possibile e comunque entro 96 ore dalla data del prelievo.
- Il materiale fogliare invece va conservato in frigoriferi portatili provvisti di pani di ghiaccio per mantenere la temperatura al di sotto dei 10°C , fino al conferimento al laboratorio di diagnosi, che deve avvenire nel più breve tempo possibile e comunque entro 72 ore dalla data del prelievo.

NORME PRATICHE DI CAMPIONAMENTO DI TRALCI LEGNOSI DI VITE PER LA DETERMINAZIONE DEI VIRUS PREVISTI DAL DECRETO LEGS. N. 16 DEL 02/02/2021

La presente Procedura descrive le modalità di campionamento dei tralci legnosi di Vite da sottoporre ad analisi virologica ai sensi del come previsto dal Decreto legislativo N. 16 del 02 febbraio 2021, prelevati in:

1. impianti di piante madri di categoria Iniziale e Base, per le esigenze di autocontrollo, con l'analisi di tutte le piante madri presenti con cadenze minime rispettivamente di 5 e 6 anni.
2. impianti di piante madri di categoria Certificato da sottoporre ad autocontrollo con cadenza decennale,

Le procedure di campionamento sotto descritte sono conformi alle indicazioni tecniche contenute nella nota tecnica del MIPAAF prot. N. 0202217 del 05/05/2022. Il piano di campionamento è stato redatto sulla base delle indicazioni previste dallo standard ISPM 31.

1. <u>Metodo di campionamento</u>
   - Gli impianti sottoposti a campionamento sono vigneti di categoria Iniziale, Base e Certificato, denunciati dagli operatori professionali vivaisti nel database informatico VIVAI VITE ed idonei per la raccolta di gemme da utilizzare per la produzione di materiale di propagazione legnosa.
   - Oggetto del campionamento sono tralci legnosi di 1 anno, ben lignificati, aventi calibro compreso tra 8 e 14 mm. e lunghezza non inferiore a 60 cm.
   - I tralci, raccolti durante la stagione di riposo vegetativo, devono essere in buono stato, freschi, privi di alterazioni dovute a fattori abiotici, quali ad es. grandinate o ad altri agenti biotici, quali malattie di varia natura che possono determinare l'insorgenza di muffe, imbrunimenti e seccumi. All'atto dell'accettazione dei campioni il personale del Laboratorio verifica l'idoneità del materiale consegnato e, in caso di non conformità, lo segnala al committente. Se il committente intende procedere ugualmente con l'analisi, verrà segnalato, nel campo "note accettazione" del Modulo Accettazione campioni e preventivo di spesa (Mod-04-08-02) quali prove possono essere influenzate dallo scostamento registrato e sarà inoltre evidenziato che il Laboratorio declina ogni responsabilità sulla validità dei risultati forniti per tali prove. Tale informazione sarà riportata anche sul Rapporto di Prova.
   - L'analisi di tralci non conformi, su esplicita richiesta del committente, è comunque subordinata alla disponibilità della quantità minima di tessuto floematico integro prevista per l'analisi. Nei casi di materiali legnosi con problemi di alterazioni è opportuno prevedere il campionamento di almeno due tralci da ogni singola pianta per aumentare la quantità di tessuto floematico integro disponibile per l'analisi;
   - Il materiale deve essere raccolto asciutto, deve essere posto in buste di plastica, va conservato a basse temperature o in luoghi freschi tali da evitare eventuale disidratazione e consegnato

rapidamente al Laboratorio di analisi, preferibilmente entro 72 ore dal prelievo in campo. In alternativa può essere conservato in condizioni refrigerate (4°C) fino al conferimento al laboratorio di diagnosi, che deve avvenire quanto prima considerando che i tralci possono essere conservati in condizioni refrigerate fino a 60 giorni dalla raccolta, termine entro il quale devono essere analizzati.

- I tralci raccolti sono etichettati uno ad uno o in pool, costituiti da un massimo di 5 tralci distinti, con un'etichetta con un codice alfanumerico univoco per tutti i campioni forniti dal Committente.
- Il committente deve fornire al Laboratorio le seguenti informazioni minime: data del campionamento, dati identificativi degli impianti di viti-madri sottoposti ad analisi distinti per matricola vivaistica e numero di riga di denuncia, varietà e clone. Tali informazioni possono essere riportate in un elenco a parte purché vi sia una corrispondenza univoca tra il codice alfanumerico riportato nell'etichetta associata al tralcio o al pool di 5 tralci e le informazioni obbligatorie soprarichiamate
- I tralci di ogni mazzetto devono essere raggruppati adeguatamente mediante spago in plastica, fascette o altro materiale idoneo allo scopo. A loro volta tutti i mazzetti di tralci di un impianto devono essere raggruppati insieme con le stesse modalità, al fine di evitare la possibilità di disperdere singoli tralci in altri mazzetti o contenitori di plastica durante le operazioni di trasporto.

2. Piano di campionamento

Mentre per gli impianti di categoria Iniziale e Base è previsto il campionamento e l'analisi di tutte le piante presenti, nella categoria Certificato il piano di campionamento deve permettere di rilevare, all'interno di ciascun vigneto di viti-madri, una presenza di piante infette di almeno il 5 % con un livello di confidenza del 95 %. Al tal fine si adottano le indicazioni dello Standard internazionale ISPM 31, come di seguito riportato:

Piante in denuncia	**N. di viti da cui prelevare almeno 1 tralcio**
< 30	Tutte le piante in denuncia
31-40	31
41-50	39
51-75	39
76-100	45
101-150	46
151-200	51
201-300	54
301-400	55
401-600	56
600	56
601-1200	57
>1200	80

I tralci legnosi vanno raccolti da ogni singola pianta seguendo uno schema "a serpentone" in maniera tale da raccogliere un campione globale uniformemente distribuito su tutto l'impianto/filare, con un intervallo di campionamento proporzionale alle dimensioni dell'impianto, determinato come segue:

$$\text{Intervallo di campionamento} = \frac{\text{n. viti nell'impianto in denuncia}}{\text{n. viti dalle quali si preleva almeno un tralcio}}$$

La tabella seguente indica sinteticamente l'anno di effettuazione del campionamento in funzione dell'anno di impianto del campo di piante madri.

Anno e tipo di d'impianto	**Disponibilità certificato analisi entro**	**Epoca consigliata di prelievo del campione**
N – categoria Certificato Es.: 2013	30 giugno (N+11) Es.: 30 giugno 2024	Autunno - Inverno (N+10) Es.: Novembre 2023-Marzo 2024
N = anno d'impianto del campo di piante madri.		

NORME PRATICHE DI CAMPIONAMENTO PER LA DETERMINAZIONE DI XIPHINEMA INDEX E XIPHINEMA DIVERSICAUDATUM IN CAMPIONI DI TERRENO

La presente Procedura descrive le modalità di campionamento da adottare per la raccolta dei campioni di terreno da destinare all'analisi dei Nematodi della Vite vettori di virus (Xiphinema index e Xiphinema diversicaudatum) regolamentati ai sensi del Decreto Legislativo 2 febbraio 2021, n. 16 e successive modificazioni e integrazioni, da sottoporre ad analisi per attività di autocontrollo:

1. nei terreni destinati ad ospitare nuovi impianti di piante madri di marze e portinnesti;
2. nei terreni destinati ad ospitare i vivai (barbatellai);
3. nei substrati utilizzati per la produzione di barbatelle fuori suolo;

I risultati di un'analisi nematologica dipendono in parte dalla raccolta, dall'imballaggio e dalla spedizione del campione. Tali operazioni, così come la formulazione della richiesta di analisi, sono sempre a carico del cliente. Il laboratorio è comunque a disposizione del cliente per ogni ulteriore informazione.

I periodi migliori per eseguire il campionamento dei terreni sono la primavera e l'autunno.

Il campione di terreno da raccogliere deve garantire la rappresentatività dell'appezzamento di terreno oggetto di indagine e deve essere, a seconda dei casi, omogeneo per diverse caratteristiche, quali ad es.:

- stesso tipo di terreno;
- stessa coltura in corso;
- stessa coltura dell'anno precedente;
- stesso sistema di lavorazioni colturali;
- stesso tipo di sintomi sulla coltura, se applicabile

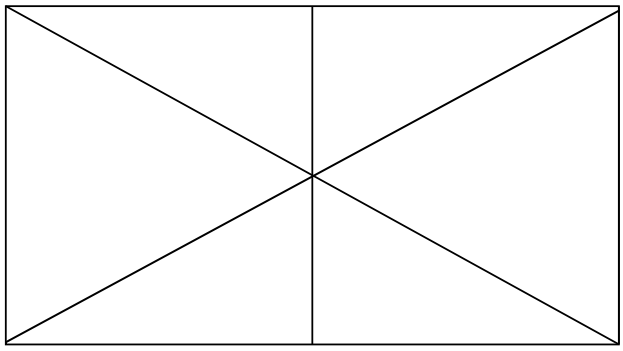
Metodo di campionamento

Il campione finale di terreno consegnato al laboratorio deve:

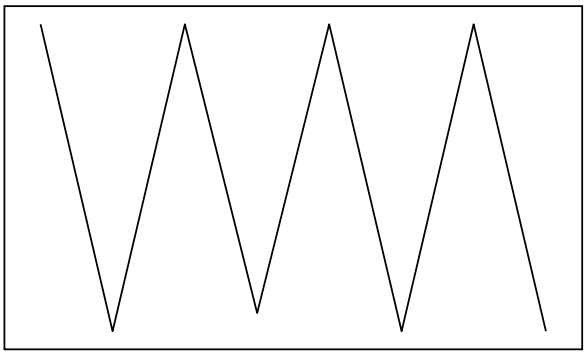
- consistere in almeno 1 kg di terra prelevato con una sonda per carotaggio o, in alternativa, con una vanga, o con altri ausili meccanici equivalenti, in modo uniforme nell'appezzamento;
- per appezzamenti di terreno omogeneo fino a 2000mq effettuare almeno 20 prelievi/carotaggi di piccole quantità di suolo rappresentative della stratigrafia, uniformemente distribuiti nell'area da campionare secondo i possibili schemi seguenti.
- Per appezzamenti di dimensioni superiori a 2000 mq e fino a 4 ettari aumentare il numero di carotaggi fino a 60 (a puro titolo esemplificativo si suggerisce la seguente combinazione 30 campioni per 5000mq, 35 per 10000mq, 40 per 20000mq, 50 per 30000mq e 60 per 40000)
- I periodi migliori per eseguire il campionamento sono la primavera e l'autunno con terreno umido, non secco o saturo d'acqua. È preferibile evitare l'inverno e l'estate dove le condizioni rispettivamente di terreno gelato e terreno asciutto sono sfavorevoli alla sopravvivenza dei Nematodi che migrano negli strati più profondi. Nel caso di campionamento nelle stagioni e nelle condizioni favorevoli la profondità di prelievo del terreno dovrà essere di almeno 40cm, è necessario scendere almeno a 60cm nelle stagioni e in condizioni sfavorevoli.
- La frazione di terreno asportata con un singolo prelievo/carotaggio costituisce un campione elementare. Tutti i campioni elementari vanno uniti insieme in un secchio/contenitore pulito e mescolati adeguatamente per formare il campione globale. Dal campione globale va poi prelevata un'aliquota di almeno 1 kg di materiale che forma il campione finale da consegnare al laboratorio.

1. Piano di campionamento su terreno nudo

- Campionamento di 20/60 campioni elementari distribuiti lungo le linee diagonali dell'appezzamento e sondaggio degli eventuali altri punti secondo uno schema a stella



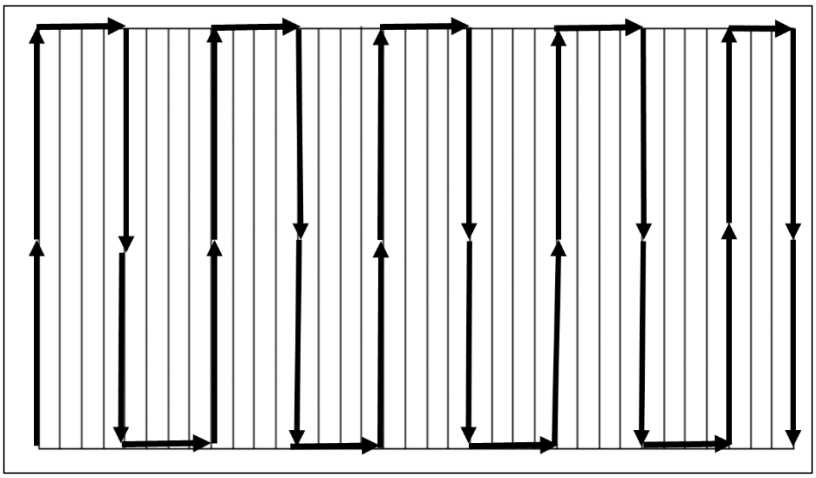
- Campionamento di 20/60 campioni elementari procedendo a zig-zag sull'appezzamento, al fine di ottenere una copertura omogenea di tutta la superficie.



2. Piano di campionamento del terreno con la coltura già in essere.

- Campionamento dell'appezzamento lungo le file di piante con prelievi sulla fila.

- Per giungere a 20 (o 60) prelievi/carotaggi è necessario campionare seguendo un percorso a serpentone come nello schema di campionamento a zig zag. In questo caso bisogna calcolare il numero delle file dell'appezzamento ed il numero delle piante lungo la fila in maniera da determinare sia le file da campionare che l'intervallo, in metri o in numero di piante, tra un prelievo/carotaggio e quello successivo pe raggiungere i 20 (o 60) carotaggi prefissati



- in presenza della coltura il campione di terreno dovrà essere prelevato in prossimità delle radici

CARATTERISTICHE DEL CAMPIONE DI TERRENO:
Dopo aver effettuato una serie di prelievi (almeno 20/60 campioni elementari) in modo da assicurare una copertura omogenea dell'appezzamento da testare, il terreno raccolto dovrà essere accuratamente mescolato per formare il campione globale e da questo insieme verrà preparato il campione finale del peso di almeno 1 kg e posto in un

sacchetto in plastica robusto o, in alternativa, in un doppio sacchetto di plastica, per evitare il rischio di rotture accidentali e perdite di campione. Il campione deve essere ben chiuso, per evitare perdite di umidità. Fino alla consegna al laboratorio (preferibilmente entro 72 ore dal prelievo) il campione va conservato in un luogo fresco non esposto alla luce (a temperature comprese tra 5 e 10°C).
Il campione nel sacchetto deve essere chiaramente identificato mediante un pennarello indelebile o apposita etichetta esterna contenente i riferimenti minimi necessari per l'identificazione del campione o, in alternativa, un codice alfanumerico.
All'atto dell'accettazione del campione di terreno il committente deve fornire al Laboratorio le seguenti informazioni minime: data del campionamento, dati identificativi dei terreni (catastali e GPS) o dei substrati (marca, lotto, estremi dei documenti commerciali) da sottoporre agli accertamenti analitici. Tali informazioni possono essere riportate in un elenco a parte purché vi sia una corrispondenza univoca tra il codice alfanumerico riportato nell'etichetta associata al campione di terreno e le informazioni obbligatorie soprarichiamate.

NORME PRATICHE DI CAMPIONAMENTO PER LA DETERMINAZIONE DI CERATOCYSTIS PLATANI

Ceratocystis platani è un fungo lignicolo, non cariogeno, ascomicete di origine americana agente causale del "cancro colorato", la più grave malattia dei platani che può portare alla morte della pianta in pochi anni. Il nome della malattia deriva dalla caratteristica colorazione rossiccia che il parassita causa all'esterno degli organi legnosi colpiti (rami, branche, tronco). Asportando la corteccia si evidenziano le macchie di color marrone più o meno scure di tessuto necrotizzato. Quando la pianta è già morta è più difficile vedere i sintomi esterni: corteccia appare screpolata e sotto la corteccia il legno presenta venature marrone/grigio/nere.
La scelta delle piante dalle quali prelevare il campione va fatta sulla base di un'attenta valutazione dei sintomi. Anche in presenza di piante che mostrano segni di sofferenza aspecifici o di piante morte da tempo (in cui i sintomi tipici caratteristici non sono più apprezzabili) è giustificato il prelievo del campione, sia in zone indenni (provincia di Trieste), sia in zone in cui la malattia è presente (il resto della regione FVG).
L'esito del saggio di isolamento dipende dalla stagione dell'anno in cui viene effettuato il prelievo, essendo in genere i periodi migliori fine inverno, primavera e autunno. Il saggio molecolare invece non è legato alla stagione e può essere effettuato anche su piante morte da tempo.
Il prelievo di campione legnoso va effettuato nella zona di reazione del cancro, cioè in prossimità del fronte di avanzamento dell'alterazione. Bisogna individuare la zona di confine tra tessuto corticale necrotico e tessuto corticale vitale. La presenza di alterazioni cromatiche aiuta ad individuare tali zone. Si può effettuare un sottile graffio sulla superficie corticale con un coltello o bisturi, e individuare dove la ferita vira dal colore verde (corteccia viva) al marrone (corteccia morta).
Evitare scortecciamenti vistosi in quanto questo può favorire la dispersione del fungo ed utilizzare sempre strumenti puliti e disinfettati con alcool e sterilizzati alla fiamma (prima e dopo ogni prelievo). Prelevare con un coltello o un carotatore una porzione di legno di almeno 3 g e depositarla in un sacchetto di plastica. Trasportare il campione mantenendolo sempre refrigerato (+10°C) e consegnarlo al laboratorio nel più breve tempo possibile e comunque entro 72 ore dal prelievo.

NORME PRATICHE DI CAMPIONAMENTO PER LA DETERMINAZIONE DI VIRUS E FITOPLASMI DELLA VITE (FLAVESCENZA DORATA E LEGNO NERO) E DI *XYLOPHILUS AMPELINUS*

La presente Procedura descrive le modalità di campionamento da adottare per la raccolta dei campioni da destinare all'analisi dei Virus della Vite (Arabis mosaic virus (ArMV), Grapevine fanleaf virus (GFLV), Grapevine leaf-roll associated virus-1 (GLRaV-1), Grapevine leaf-roll associated virus-2 (GLRaV-2), Grapevine leaf-roll associated virus-3 (GLRaV-3), Grapevine virus A (GVA), Grapevine virus B (GVB) e Grapevine fleck virus (GFKV), dei Fitoplasmi della vite (Flavescenza dorata e Legno nero) e di *Xylophilus ampelinus* da sottoporre ad analisi ufficiali nell'ambito dell'applicazione del Reg. UE 2016/2031, del Reg. (UE) 2019/2072 e successive modificazioni e integrazioni, del DECRETO LEGISLATIVO 2 febbraio 2021, n. 16. e successive modificazioni e integrazioni o per finalità di monitoraggio pubbliche o di aziende private:

1. nei campi di piante madri di marze e portinnesto e nei vivai (barbatellai) per le finalità di controllo e certificazione del materiale di propagazione della vite;
2. nei campioni legnosi costituiti da barbatelle frigo-conservate o tralci raccolti per finalità di certificazione all'export di materiale di propagazione della vite o su materiali provenienti da altre Regioni italiane o altre nazioni europee;
3. nei vigneti produttivi di aziende singole ed associate;

1. <u>Campioni raccolti per analisi ufficiali:</u>

Gli impianti di materiale di moltiplicazione sottoposti a campionamento sono vigneti di proprietà di aziende vivaistiche e/o del costitutore ERSA, inseriti nel database informatico nazionale, ed idonei per la raccolta di gemme da utilizzare per la produzione di materiale di propagazione legnosa. Ogni campionamento svolto dai funzionari e dai tecnici del Servizio deve essere oggetto di georeferenziazione GPS, con riferimento all'appezzamento o al singolo filare oggetto di campionamento.

- Oggetto del campionamento sono germogli e foglie sintomatiche ed asintomatiche, tralci e barbatelle in fase vegetativa o frigo-conservate.
- I germogli e le foglie possono essere raccolte da maggio a ottobre, ma preferibilmente entro settembre, in funzione della comparsa dei sintomi, variabile di anno in anno. Devono essere raccolti asciutti, integri, privi di imbrunimenti aspecifici e non in avanzato stato di senescenza.
- Ogni campione di una pianta deve essere costituito da un minimo di 5 ad un massimo di 15 foglie in funzione delle dimensioni delle stesse e dell'eventuale raggruppamento in pool di più sub-campioni.
- Le barbatelle in fase vegetativa vanno campionate tal quale, compreso il portinnesto e, se possibile, anche con l'apparato radicale.
- Le barbatelle frigo-conservate ed i tralci legnosi di 1 anno, ben lignificati, aventi calibro compreso tra 8 e 14 mm. e lunghezza non inferiore a 60 cm., raccolti durante la stagione di riposo vegetativo, devono essere in buono stato, freschi, privi di alterazioni dovute a fattori abiotici, quali ad es. grandinate o ad altri agenti biotici, quali malattie di varia natura che possono determinare l'insorgenza di muffe, imbrunimenti e seccumi. Il numero dei campioni da raccogliere è concordato preventivamente tra l'ispettore/tecnico ed il laboratorio in funzione delle dimensioni del lotto destinato all'export per finalità commerciali o sperimentali.
- Il materiale vegetale deve essere raccolto asciutto e conservato entro buste di plastica chiuse, per evitare perdite di umidità, e mantenuto in contenitori termici contenenti pani di ghiaccio refrigerati,

fino al conferimento al laboratorio di diagnosi, nella stessa giornata di raccolta, oppure fino al trasporto presso la sede periferica del Servizio per essere conservato in frigorifero prima del successivo trasporto al Laboratorio da effettuarsi entro 72 ore dalla data del prelievo in campo. All'atto della consegna il Laboratorio provvede alla misurazione della temperatura dei campioni che deve risultare inferiore od uguale al + 10°C. In caso di temperature superiori ai 10 °C il campione sarà considerato non idoneo. Se il committente intenderà procedere ugualmente con l'analisi, verrà segnalato, nel campo "note accettazione" del Modulo Accettazione campioni e preventivo di spesa (Mod-04-08-02) o, nel caso di campioni ufficiali, nel verbale di consegna del campione, quali prove possono essere influenzate dallo scostamento registrato e sarà inoltre evidenziato che il Laboratorio declina ogni responsabilità sulla validità dei risultati forniti per tali prove. Tale informazione sarà riportata anche sul RdP.

- I campioni raccolti vanno identificati con un codice a barre univoco o un codice alfanumerico o, eventualmente, con l'indicazione del Lotto campionato. Quando possibile, (impianti di piante madri di marze ed impianti di piante madri di portainnesto impalcati) un contrassegno (nastro isolante o etichetta) va apposto anche sulla pianta madre da cui è stato prelevato il campione.
- Negli impianti di portinnesto strisciante il campionamento va fatto preferibilmente lungo i bordi dell'appezzamento, nel caso di impossibilità al camminamento lungo gli interfilari, raccogliendo preferibilmente foglie con sintomi riferibili ai Virus della Vite, ai Fitoplasmi della Vite o a *Xylophilus ampelinus* fino al raggiungimento del numero di campioni da raccogliere.
- I campioni fogliari raccolti da ogni impianto sono raggruppabili in pool costituiti da un numero massimo di 5 unità o sub-campioni raccolti da distinte piante.
- Le barbatelle frigo-conservate ed i tralci di ogni mazzetto devono essere raggruppati adeguatamente mediante spago in plastica, fascette o altro materiale idoneo allo scopo, al fine di evitare la possibilità di disperdere singole unità in altri mazzetti o sacchi di plastica durante le operazioni di trasporto.
- Successivamente alla raccolta dei campioni e prima della loro consegna al Laboratorio di diagnosi, il funzionario responsabile procede all'inserimento degli impianti campionati all'interno del database informatico del Servizio ed alla compilazione del verbale di consegna.
- All'atto della consegna dei campioni avviene la verifica dell'elenco dei campioni indicati nel verbale che viene controfirmato per accettazione dal tecnico di laboratorio che riceve i materiali da analizzare e restituito in copia al tecnico campionatore e/o responsabile della consegna.
- Eventuali variazioni nei dati relativi ai campionamenti effettuati e riportati nel database e nel verbale dovranno essere comunicati via mail al Laboratorio per gli opportuni aggiornamenti/correzioni.
- A conclusione del ciclo di analisi (massimo 30 giorni lavorativi) il laboratorio provvede all'emissione del relativo rapporto di prova validato che può essere anticipato ai competenti funzionari e tecnici del Servizio fitosanitario anche in formato pdf.

2. <u>Campioni raccolti da privati</u>

- Oggetto del campionamento sono germogli e foglie sintomatiche ed asintomatiche, tralci e barbatelle in fase vegetativa o frigo-conservate.
- I germogli e le foglie possono essere raccolte da maggio a ottobre, ma preferibilmente entro settembre, in funzione della comparsa dei sintomi, variabile di anno in anno. Devono essere raccolti asciutti, integri, privi di imbrunimenti aspecifici e non in avanzato stato di senescenza.
- Ogni campione di una pianta deve essere costituito da un minimo di 5 ad un massimo di 15 foglie in funzione delle dimensioni delle stesse e dell'eventuale raggruppamento in pool di più sub-campioni.

- Le barbatelle in fase vegetativa vanno campionate tal quale, compreso il portinnesto e, se possibile, anche con l'apparato radicale.
- Le barbatelle frigo-conservate ed i tralci legnosi di 1 anno, ben lignificati, aventi calibro compreso tra 8 e 14 mm. e lunghezza non inferiore a 60 cm., raccolti durante la stagione di riposo vegetativo, devono essere in buono stato, freschi, privi di alterazioni dovute a fattori abiotici, quali ad es. grandinate o ad altri agenti biotici, quali malattie di varia natura che possono determinare l'insorgenza di muffe, imbrunimenti e seccumi. Il numero dei campioni da raccogliere è concordato preventivamente tra l'ispettore/tecnico ed il laboratorio in funzione delle dimensioni del lotto destinato all'export per finalità commerciali o sperimentali.
- Il materiale vegetale deve essere raccolto asciutto e conservato entro buste di plastica chiuse, per evitare perdite di umidità, e mantenuto in contenitori termici contenenti pani di ghiaccio refrigerati, fino al conferimento al laboratorio di diagnosi, nella stessa giornata di raccolta, oppure fino al trasporto presso la sede aziendale per essere conservato in frigorifero prima del successivo trasporto al Laboratorio da effettuarsi entro 72 ore dalla data del prelievo in campo. All'atto della consegna il Laboratorio provvede alla misurazione della temperatura dei campioni che deve risultare inferiore od uguale al + 10°C. In caso di temperature superiori ai 10 °C il campione sarà considerato non idoneo. Se il committente intenderà procedere ugualmente con l'analisi, verrà segnalato, nel campo "note accettazione" del Modulo Accettazione campioni e preventivo di spesa (Mod-04-08-02) o, nel caso di campioni ufficiali, nel verbale di consegna del campione, quali prove possono essere influenzate dallo scostamento registrato e sarà inoltre evidenziato che il Laboratorio declina ogni responsabilità sulla validità dei risultati forniti per tali prove. Tale informazione sarà riportata anche sul RdP.
- I campioni raccolti vanno identificati con un codice alfanumerico o, eventualmente, con l'indicazione del Lotto campionato.
- I campioni fogliari raccolti da ogni impianto sono raggruppabili in pool costituiti da un numero massimo di 5 unità o sub-campioni raccolti da distinte piante.
- Le barbatelle frigo-conservate ed i tralci di ogni mazzetto devono essere raggruppati adeguatamente mediante spago in plastica, fascette o altro materiale idoneo allo scopo, al fine di evitare la possibilità di disperdere singole unità in altri mazzetti o sacchi di plastica durante le operazioni di trasporto.
- A conclusione del ciclo di analisi (massimo 30 giorni lavorativi) il laboratorio provvede all'emissione del relativo rapporto di prova validato che può essere anticipato ai committenti anche in formato pdf.

NORME PRATICHE DI CAMPIONAMENTO PER LA DETERMINAZIONE DI *RALSTONIA SOLANACEARUM* (SPECIES COMPLEX)

La presente Procedura descrive le modalità di campionamento da adottare per la raccolta dei campioni da sottoporre ad analisi ufficiali per la determinazione di Ralstonia solanacearum SC (Ralstonia solanacearum, Ralstonia pseudosolanacearum, Ralstonia syzygii) o per finalità di monitoraggio pubbliche o di aziende private:

1. nei lotti di patate da consumo provenienti dall'Egitto provenienti dalla coltivazione di bacini autorizzati dalla UE ai sensi della DECISIONE DI ESECUZIONE DELLA COMMISSIONE del 29 novembre 2011;
2. nei campioni di Patate da seme prelevate dai tecnici del Servizio fitosanitario per finalità di monitoraggio ai sensi del da sottoporre ad analisi ufficiali nell'ambito dell'applicazione del Reg. UE 2016/2031, del Reg. (UE) 2019/2072 e successive modificazioni e integrazioni.
3. nei campioni di patate conferiti da aziende singole ed associate.

Il campionamento di tuberi di Patata da consumo da analizzare ai sensi della DECISIONE DI ESECUZIONE DELLA COMMISSIONE del 29 novembre 2011 va fatto secondo le modalità previste da tale norma che a sua volta fa riferimento alle procedure dalla Direttiva 98/57/CE del 20 luglio 1998 sul controllo di Ralstonia solanacearum (Smith) Yabuuchi et al., ora abrogata dal 31/12/2021. A tal fine è previsto il campionamento di n. 200 tuberi asintomatici da riporre in un sacco di rafia sintetica o plastica robusta (polipropilene) traforato di dimensioni indicative 70 x 120 cm., pari a circa 120 litri, con una capacità di carico di almeno 50 kg. di materiale. Il sacco va sigillato con apposito filo di ferro, spago di corda bloccati con sigillo di ferro o fascetta di plastica sigillante e a cui va allegata l'etichetta dell'Ente campionatore contenente le informazioni relative all'anagrafica del campione, riportate anche nel verbale di prelievo e campionamento.
L'etichetta è di plastica robusta preferibilmente con anello di metallo per ridurre il rischio di rottura accidentale e conseguente distacco della stessa o integrata nella fascetta di plastica in un corpo unico.
I sacchi di plastica sono dedicati esclusivamente al trasporto di questa tipologia di campioni e sono mantenuti puliti e asciutti rispetto a residui di terra o sabbia ed altri agenti contaminanti.
Il materiale campionato deve essere raccolto asciutto e mantenuto in condizioni di temperatura ambiente, fino al conferimento al laboratorio di diagnosi, che deve avvenire nel più breve tempo possibile e comunque entro 96 ore dalla data del prelievo.
Nel caso di campioni di patate da seme o di campioni di patata forniti da privati si consiglia il prelievo di almeno 20 tuberi per ogni lotto asintomatico da conservare in un sacchetto di plastica robusta di dimensioni adeguate rispetto al campione (indicativamente 40 x 60 cm).
Nel caso di presenza di tuberi con sintomi sospetti va prelavato il singolo tubero sintomatico in un singolo sacchetto
Il materiale campionato deve essere raccolto asciutto e mantenuto in condizioni di temperatura ambiente, fino al conferimento al laboratorio di diagnosi, che deve avvenire nel più breve tempo possibile e comunque entro 24 ore dalla data del prelievo.

NORME PRATICHE DI CAMPIONAMENTO PER LA DETERMINAZIONE DI *XYLELLA FASTIDIOSA*

La presente Procedura descrive le modalità di campionamento da adottare per la raccolta dei campioni da destinare all'analisi di Xylella fastidiosa da sottoporre ad analisi ufficiali nell'ambito dell'applicazione del Reg. UE 2016/2031, del Reg. (UE) 2019/2072 e successive modificazioni e integrazioni o per finalità di monitoraggio pubbliche o di aziende private:

- nei campi di piante madri di marze e portinnesto e nei vivai (barbatellai) per le finalità di certificazione del materiale di propagazione della vite;
- nei vigneti produttivi di aziende singole ed associate;
- nei campioni legnosi costituiti da barbatelle frigo-conservate o tralci raccolti per finalità di certificazione all'export di materiale di propagazione della vite o su materiali provenienti da altre Regioni italiane o altre nazioni europee;
- nelle aziende vivaistiche e rivendite di piante ornamentali e di fruttiferi;
- nei frutteti;
- presso le aziende agricole e nei giardini;
- in parchi e nelle aree verdi pubbliche, incluse le principali strade alberate;
- in boschi, foreste ed ambienti naturali;

1. <u>Campioni raccolti per analisi ufficiali</u>

- Gli impianti di materiale di moltiplicazione sottoposti a campionamento sono vigneti denunciati dai vivaisti e/o dal costitutore ERSA, inseriti nel database informatico regionale, ed idonei per la raccolta di gemme da utilizzare per la produzione di materiale di propagazione legnosa.
- Ogni campionamento svolto dai funzionari e dai tecnici del Servizio deve essere oggetto di georeferenziazione GPS, con riferimento all'appezzamento, all'area, al singolo filare o alla singola pianta oggetto di prelievo.
- Le modalità di campionamento dipendono dal tipo di pianta:
- Specie arboree a foglia caduca: 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: 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 della/e radice/i principale/i.
- Arbusti: rametti di 15-20cm con foglie, ovvero foglie mature con picciolo prelevate da rami ben lignificati;
- Le principali specie vegetali che sono ospiti dei ceppi di *Xylella fastidiosa* presenti in Italia (Puglia, Lazio e Toscana) sono le seguenti:
  - Olivo (Olea europea);
  - Mandorlo (Prunus dulcis)
  - Oleandro (Nerium oleander);
  - Ciliegio (Prunus avium);
  - Poligala a foglie di mirto (Polygala myrtifolia);
  - Falso rosmarino australiano (Westringia fruticosa);
  - Mimosa (Acacia saligna);
  - Ginestra selvatica (Spartium junceum);
  - Rosmarino (Rosmarinus officinalis) ;
  - Alaterno (Rhamnus alaternus) ;
  - Mirto (Myrtus communis)
  - Cisto (Cistus sp.)
  - Sparzio villoso (Calicotome villosa)
  - Vinca (Vinca minor);
  - Lavanda (Lavandula sp.)
  - Lauro (Laurus nobilis)
  - Vite (Vitis vinifera)
- La sintomatologia a carico delle specie potenziali ospiti può essere la seguente :
- Estesi fenomeni di disseccamenti della chioma, per le specie arboree, o di porzioni della parte aerea per le specie arbustive, sono stati riscontrati su Olivo, Oleandro, Acacia saligna, Westringia fructicosa, Polygala myrtifolia, ,ecc.
- Fenomeni di deperimento generalizzato con ingiallimento delle foglie sono stati osservati su Myrtus communis e Rosmarinus officinalis;
- Tipici sintomi di leaf scorching sono stati invece riscontrati su olivo, mandorlo, ciliegio e varie ornamentali.
- Le piante di Olivo asintomatiche o con lieve sintomatologia devono essere campionate preferibilmente in estate prelevando in diverse porzioni della chioma secondo i 4 punti cardinali nei settori medio alti della chioma, eventualmente ricorrendo all'uso di uno svettatoio, evitando di raccogliere porzioni di giovani germogli, polloni o succhioni;

- Sugli alberi adulti campionare i settori adiacenti alle parti sintomatiche, se presenti, ad altezze diverse raccogliendo un campione di almeno 8 rametti con almeno 2-3 foglie mature, oppure 10-12 foglie mature con picciolo da diversi rami lignificati;
- Le foglie di Vite con picciolo possono essere raccolte da agosto a ottobre, ma preferibilmente entro settembre. I sintomi sulla Vite vanno dalla fine dell'estate all'inizio dell'autunno quando le condizioni meteorologiche sono prevalentemente calde e secche o quando le piante di vite sono esposte allo stress da siccità. Devono essere raccolte asciutte, integre, prive di necrosi e/o imbrunimenti aspecifici e non in avanzato stato di senescenza.
- Ogni campione di foglie di una pianta di Vite deve essere costituito da un minimo di 5 ad un massimo di 15 foglie in funzione delle dimensioni delle foglie e dell'eventuale raggruppamento in pool di più sub-campioni.
- Le barbatelle di Vite in fase vegetativa vanno campionate tal quale, compreso il portinnesto e, se possibile, con l'apparato radicale.
- Le barbatelle frigo-conservate ed i tralci legnosi di 1 anno, ben lignificati, aventi calibro compreso tra 8 e 14 mm. e lunghezza non inferiore a 60 cm., raccolti durante la stagione di riposo vegetativo, devono essere in buono stato, freschi, privi di alterazioni dovute a fattori abiotici, quali ad es. grandinate o ad altri agenti biotici, quali malattie di varia natura che possono determinare l'insorgenza di muffe, imbrunimenti e seccumi. Il numero dei campioni da raccogliere è concordato preventivamente tra l'ispettore ed il laboratorio in funzione delle dimensioni del lotto destinato all'export per finalità commerciali o sperimentali.
- Il materiale vegetale in fase vegetativa deve essere raccolto asciutto e conservato entro buste di plastica chiuse, per evitare perdite di umidità, e mantenuto preferibilmente in contenitori termici contenenti pani di ghiaccio refrigerati, fino al conferimento al laboratorio di diagnosi, preferibilmente nella stessa giornata di raccolta, oppure fino al trasporto presso la sede periferica del Servizio per essere conservato in frigorifero prima del successivo trasporto al Laboratorio da effettuarsi entro 72 ore dalla data del prelievo in campo. All'atto della consegna il Laboratorio provvede alla misurazione della temperatura dei campioni che dovrebbe risultare preferibilmente inferiore od uguale al + 10°C. Il valore registrato verrà segnalato, nel campo "note accettazione" del Modulo Accettazione campioni e preventivo di spesa (Mod-04-08-02) o, nel caso di campioni ufficiali, nel verbale di consegna del campione. Tale informazione sarà riportata anche sul RdP.
- Prima di procedere all'insacchettamento delle foglie e/o dei rametti i campioni vanno sbattuti per evitare il trasporto di potenziali insetti vettori presenti sulla vegetazione;
- I campioni raccolti vanno identificati con un codice a barre univoco o un codice alfanumerico o, eventualmente, con l'indicazione del Lotto campionato. Quando possibile, un contrassegno (nastro isolante o etichetta) va apposto anche sulla pianta madre da cui è stato prelevato il campione.
- Negli impianti di portinnesto strisciante il campionamento va fatto preferibilmente lungo i bordi dell'appezzamento, nel caso di impossibilità al camminamento lungo gli interfilari, raccogliendo preferibilmente foglie con sintomi riferibili a *Xylella fastidiosa* fino al raggiungimento del numero di campioni da raccogliere.
- I campioni fogliari raccolti da ogni impianto di Vite sono raggruppabili in pool costituiti da un numero massimo di 5 unità o sub-campioni raccolti da distinte piante.
- Le barbatelle frigo-conservate ed i tralci di ogni mazzetto devono essere raggruppati adeguatamente mediante spago in plastica, fascette o altro materiale idoneo allo scopo, al fine di evitare la possibilità di disperdere singole unità in altri mazzetti o sacchi di plastica durante le operazioni di trasporto.

- Successivamente alla raccolta dei campioni e prima della loro consegna al Laboratorio di diagnosi, il funzionario responsabile procede all'inserimento degli impianti campionati all'interno del database informatico del Servizio ed alla compilazione del verbale di consegna.
- All'atto della consegna dei campioni avviene la verifica dell'elenco dei campioni indicati nel verbale che viene controfirmato per accettazione dal tecnico di laboratorio che riceve i materiali da analizzare e restituito in copia al tecnico campionatore e/o responsabile della consegna.
- Eventuali variazioni nei dati relativi ai campionamenti effettuati e riportati nel database e nel verbale dovranno essere comunicati via mail al Laboratorio per gli opportuni aggiornamenti/correzioni.
- A conclusione del ciclo di analisi (massimo 30 giorni lavorativi) il laboratorio provvede all'emissione del relativo rapporto di prova validato che può essere anticipato ai competenti funzionari e tecnici del Servizio fitosanitario anche in formato pdf.

2. Campioni raccolti da privati

- Per i campioni raccolti da committenti privati valgono le stesse indicazioni tecniche sulle modalità di raccolta previste per i campionamenti ufficiali.
- Il materiale vegetale in fase vegetativa deve essere raccolto asciutto e conservato entro buste di plastica chiuse, per evitare perdite di umidità, e mantenuto preferibilmente in contenitori termici contenenti pani di ghiaccio refrigerati, fino al conferimento al laboratorio di diagnosi, preferibilmente nella stessa giornata di raccolta, oppure fino al trasporto presso la sede aziendale per essere conservato in frigorifero prima del successivo trasporto al Laboratorio da effettuarsi entro 72 ore dalla data del prelievo in campo. All'atto della consegna il Laboratorio provvede alla misurazione della temperatura dei campioni che dovrebbe risultare preferibilmente inferiore od uguale a + 10°C. Il valore registrato verrà segnalato, nel campo "note accettazione" del Modulo Accettazione campioni e preventivo di spesa (Mod-04-08-02) o, nel caso di campioni ufficiali, nel verbale di consegna del campione. Tale informazione sarà riportata anche sul RdP.
- Prima di procedere all'insacchettamento delle foglie e/o dei rametti i campioni vanno sbattuti per evitare il trasporto di potenziali insetti vettori presenti sulla vegetazione;
- I campioni raccolti vanno identificati con un codice alfanumerico o, eventualmente, con l'indicazione del Lotto campionato.
- A conclusione del ciclo di analisi (massimo 30 giorni lavorativi) il laboratorio provvede all'emissione del relativo rapporto di prova validato che può essere anticipato ai committenti anche in formato pdf.

Pozzuolo del Friuli, 31 dicembre 2024

Il RESPONSABILE DEL LABORATORIO
Dott.ssa Francesca De Amicis
firmato digitalmente

Firmato digitalmente da: Francesca De Amicis
Data: 27/02/2025 11:09:21