

ALLEGATO V**Disciplinari di produzione Sistema nazionale volontario di qualificazione del
materiale di propagazione vegetale**

Di cui agli articoli 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78

CAPO I - AGRUMI**PARTE A**

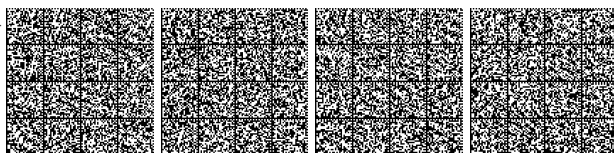
MALATTIE E ORGANISMI NOCIVI DI CUI DEVE ESSERE ACCERTATA L'ASSENZA NELLE PIANTE
MADRI DI CATEGORIA "PRE-BASE" E DEL MATERIALE DI CATEGORIA "PREBASE", "BASE" E
"CERTIFICATO" E RELATIVI SAGGI

Malattia/Agente eziologico	Acronimo	Indicatore arboreo del saggio biologico	Test Microscopici / Sierologici	Test Biomolecolari
VIRUS				
Tristezza <i>Citrus tristeza virus</i>	CTV	– Limetta messicana	– ELISA – DTBIA	–, Real time PCR – RT-PCR
Foglia rugosa <i>Citrus leaf rugose virus</i>	CiLRV	– Pompelmo		
Variegatura infettiva / Foglia bollosa <i>Citrus variegation virus</i> / <i>Citrus crinkly leaf virus</i>	CVV / CCLV	– Limone – Cedro Etrog	– ELISA	–, Real time PCRRT-PCR



Psorosi <i>Citrus psorosis virus</i>	CPsV	– Arancio dolce – cv <i>Madam Vinous</i>	– ELISA – DTBIA	–, Real time PCR – RT-PCR
Nanismo satsuma Citrus satsuma dwarf virus	SDV	– Dweet Tangor – Citrange troyer		
Foglia merlettata del Citrange Citrus tatter leaf virus	CTLV	– Dweet Tangor – Citrange troyer		
Maculatura anulare Indian citrus ring spot virus	ICRSV	– Pompelmo – Cedro Etrog 861-S1 – Citrange troyer – Limetta messicana		
Enazioni nervature Citrus vein enation virus	CVEV	– Pompelmo – Cedro Etrog 861-S1 – Citrange troyer – Limetta messicana		
VIROIDI				
Esocortite Citrus exocortis viroid	CEVd	– Cedro Etrog 861-S1 – Mandarino Parson' special – su Limone rugoso		–, Real time PCRRT-PCR
Cachessia <i>Citrus cachexia viroid</i>	HSVd	– Cedro Etrog 861-S1 – Mandarino Parson' special – su Limone rugoso		–, Real time PCR – RT-PCR
VIRUS SIMILI				
Concavità gommose Concave gum	CG	– Arancio dolce cv <i>Pineapple</i> – Pompelmo – Limone rugoso		
Cristacortis	CCr	– Arancio dolce cv <i>Pineapple</i> – Pompelmo – Limone rugoso		
Impiettratura	CI	– Arancio dolce cv <i>Pineapple</i> – Pompelmo – Limone rugoso		
Malattia Kumquat Kumquat disease	KdV	– Arancio dolce cv <i>Pineapple</i> – Pompelmo – Limone rugoso		
Incompatibilità limone rugoso Rough lemon incompatibiliy	RLeI			

FUNGHI	METODO DIAGNOSTICO
Marciume del colletto <i>Phytophthora citrophthora</i>	ISOLAMENTO
Marciume del colletto <i>Phytophthora nicotianae</i>	ISOLAMENTO



Mal secco <i>Phoma tracheiphila</i>	ISOLAMENTO
SPIROPLASMI	METODO DIAGNOSTICO
Spiroplasma citri Stubborn	ISOLAMENTO



PARTE B

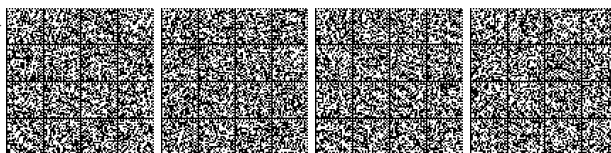
MEZZI NECESSARI ALLA CONDUZIONE E ALLA PRODUZIONE *IN VIVO* DEI MATERIALI DI CATEGORIA “PREBASE” E “BASE”**Strutture**

Le fasi di Conservazione e di Premoltiplicazione devono essere effettuate in serre a rete a prova d’insetti (screen house). Le serre devono avere dimensioni tali da soddisfare lo sviluppo previsto in funzione del volume dei contenitori utilizzati e devono rispondere ai seguenti requisiti:

1. la pavimentazione deve garantire il completo isolamento tra i contenitori e il terreno o con il piano di calpestio che può essere realizzato:
 - con adeguato vespaio rifinito con brecciolino o altro materiale inerte che assicuri un efficiente drenaggio;
 - con battuto di cemento o altro materiale. In tal caso i contenitori, i cassoni per i semenzai ed i bancali di ambientamento devono essere opportunamente distanziati dal piano di calpestio utilizzando appositi supporti di almeno 20 cm di altezza;
2. essere provviste di un vespaio perimetrale di almeno 80 cm di larghezza e di profondità, superiore di almeno 20 cm rispetto al piano interno;
3. provviste di un marciapiede o altri manufatti, dichiarati idonei dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio, che assicurino l’isolamento dall’afflusso delle acque superficiali;
4. essere realizzate con pareti con una doppia rete con maglia 20/10 (20 fili/cm in ordito e 10 fili/cm in trama) e provviste di vestibolo con doppia porta;
5. piante appartenenti a livelli qualitativi diversi possono essere allevate nella stessa screen house purché separate da doppia rete;
6. essere protette con rete antigrandine.

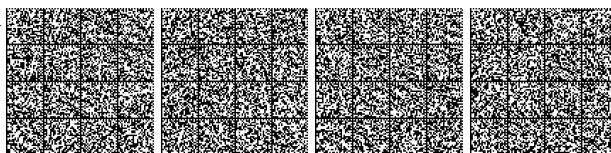
Allevamento e Produzione

1. Il materiale di “Prebase” e “Base” deve essere conservato in screen house e deve essere allevato in contenitori di adeguato volume;
2. le piante devono essere numerate progressivamente in modo stabile in sito al momento dell’introduzione;
3. il terriccio o il substrato utilizzato per i contenitori deve essere esente da *Phytophthora citrophthora* e *P. nicotianae*, tale assenza deve documentata;
4. le acque di irrigazione devono risultare o essere rese libere da propagali di *Phytophthora citrophthora* e *P. nicotianae*;
5. ogni cessione di materiale da parte del Centro di Premoltiplicazione deve essere registrata e comunicata tempestivamente (tramite fax e/o e-mail) al Servizio fitosanitario regionale competente per territorio ed a quello del destinatario finale;
6. tutte le operazioni devono essere registrate nell’apposito Registro di conduzione;
7. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all’1% di cloro attivo.



Sezioni incrementali

1. Il materiale di “Base” delle sezioni incrementali deve essere propagato in screen house e devono essere utilizzati contenitori di adeguato volume;
2. il terriccio o il substrato utilizzato per i semenzai e per i contenitori deve essere esente da *Phytophthora citrophthora* e *P. nicotianae*, tale assenza deve essere documentata;
3. le acque di irrigazione devono risultare o essere rese libere da propagali di *Phytophthora citrophthora* e *P. nicotianae*;
4. dalle piante delle sezioni incrementali può essere prelevato materiale di propagazione, per l’innesto nei vivai, certificabile, per due volte e in un massimo di ventiquattro mesi dalla data d’innesto;
5. il materiale delle cultivar del gruppo Tarocco può essere prelevato una sola volta nell’arco di diciotto mesi;
6. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all’1% di cloro attivo.



PARTE C

MEZZI NECESSARI ALLA CONDUZIONE DELLE PIANTE MADRI ED ALLA PRODUZIONE *IN VIVO* DEI MATERIALI DI CATEGORIA “CERTIFICATO”**SEZIONE I - Campi di Piante Madri**

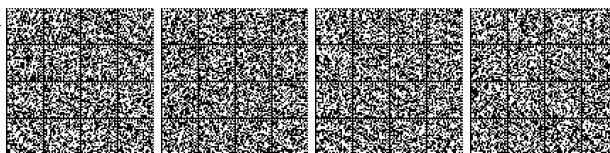
I campi di piante madri certificate, sia portamarze (PMM) sia portaseme (PMS), devono rispondere ai seguenti requisiti:

1. ubicati in aree dichiarate, dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio, esenti da focolai di Tristezza (Citrus Tristeza Virus - CTV) e da altri organismi nocivi da quarantena, salvo diverse prescrizioni del Servizio fitosanitario medesimo;
2. realizzati su terreni che rispondano ai normali requisiti di idoneità agronomica e sanitaria ed esenti da *Phytophthora nicotianae*, *P. citrophthora*, tale assenza deve essere documentata;
3. realizzati su terreni che non abbiano ospitato piante di agrumi da almeno 5 anni;
4. nelle aree dove, da parte del Servizio fitosanitario regionale competente per territorio, è stata segnalata la presenza di mal secco, le Piante Madri di specie suscettibili alla malattia (limone, limoni simili, cedro, lima, arancio amaro e bergamotto) devono essere coperte con rete protettiva al 50% di ombreggiamento;
5. essere localizzati ad una distanza di almeno 100 metri da agrumi di qualsiasi tipo, tranne il caso di allevamento delle piante in condizioni di isolamento, in strutture a rete a prova d'insetto;
6. avere una fascia di bordo di almeno 4 metri, costantemente tenuta libera da qualsiasi altra vegetazione;
7. essere isolati dall'afflusso di acque superficiali;
8. le acque di irrigazione devono risultare o essere rese libere da propaguli di *Phytophthora nicotianae*, *P. citrophthora*;
9. le piante devono essere numerate progressivamente in modo stabile in sito;
10. nel campo le file devono essere complete e distinte per accessione (specie, cultivar e clone); qualora su una stessa fila venissero allevate accessioni diverse è obbligatoria la loro separazione con interspazio doppio; comunque il sesto d'impianto non deve essere inferiore a m 4 x m 3; della disposizione delle piante deve essere prodotta specifica documentazione al Servizio fitosanitario regionale competente per territorio;
11. le piante madri portamarze (PMM) possono essere conservate al massimo per 20 anni dall'impianto;
12. le piante madri portaseme (PMS) possono essere conservate al massimo per 30 anni dall'impianto;
13. da ogni pianta madre portamarze (PMM) non si possono prelevare, annualmente, più di 1500 marze per non oltre complessive 6000 gemme, ad eccezione delle cultivar del gruppo “Tarocco” per le quali tale limite annuale è di 1000 marze e 4000 gemme;
14. gli impianti devono essere attivamente difesi al fine di contenere lo sviluppo di parassiti vegetali ed animali;
15. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.

SEZIONE II - Sezioni Incrementali

Le Sezioni incrementali devono essere ubicate in aree dichiarate, dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio, esenti da focolai di Tristezza (Citrus Tristeza Virus – CTV) e da altri organismi nocivi da quarantena, salvo ulteriori prescrizioni del Servizio fitosanitario medesimo.

Nelle sezioni incrementali le piante possono essere allevate fuori suolo e in piena terra.



Sezioni Incrementali in piena terra

1. L'impianto deve essere realizzato su terreni che rispondano ai normali requisiti di idoneità agronomica e sanitaria, esenti da *Phytophthora nicotianae*, *P. citrophthora*, tale assenza deve essere documentata;
2. l'impianto deve essere realizzato su terreni che non abbiano ospitato piante di agrumi da almeno 5 anni;
3. l'impianto deve essere localizzato in zone isolate o posto ad una distanza di almeno 100 metri da agrumeti commerciali e vivai di piante di categoria "CAC", tranne il caso di impianti realizzati sotto strutture coperte da rete antiafide;
4. nelle aree dove è stata segnalata da parte del Servizio fitosanitario regionale competente per territorio la presenza di mal secco, le piante di specie suscettibili alla malattia (limone, limoni simili, lima, cedro, arancio amaro e bergamotto) devono essere coperte con rete protettiva al 50% di ombreggiamento;
5. le acque di irrigazione devono risultare o essere rese libere da propagali di *Phytophthora citrophthora* e *P. nicotianae*;
6. le accessioni in moltiplicazione devono essere distinte in parcelle ben individuabili della cui disposizione deve essere prodotta specifica documentazione al Servizio fitosanitario regionale competente per territorio;
7. nel campo le file devono essere complete e distinte per accessione (specie, cultivar e clone); qualora su una stessa fila venissero allevate accessioni diverse è obbligatoria la loro separazione con interspazio doppio; comunque il sesto d'impianto non deve essere inferiore a m 2 x m 1; della disposizione delle piante deve essere prodotta specifica documentazione al Servizio fitosanitario regionale competente per territorio;
8. l'innesto dei semenzali deve essere eseguito a non meno di 40 cm dal colletto;
9. eventuali reinnesti, per rimediare alle fallanze del primo innesto, devono essere eseguiti utilizzando materiale della stessa accessione, in tal caso è tollerato l'innesto a non meno di 35 cm;
10. dalle piante delle sezioni incrementali il materiale di propagazione ben lignificato può essere prelevato, per tre volte dalla data d'innesto o di messa a dimora ad eccezione delle cultivar del gruppo "Tarocco" per le quali il prelievo è ammesso per due sole volte, con l'intervallo di un anno e dopo il controllo della corrispondenza varietale;
11. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.

Sezioni Incrementali in contenitore

1. Le piante devono distare almeno 100 metri da agrumeti commerciali e vivai di piante di categoria "CAC", tranne nel caso di impianti realizzati sotto strutture coperte da rete antiafide;
2. nelle aree dove, da parte del Servizio fitosanitario regionale competente per territorio è stata segnalata la presenza di mal secco, le piante di specie suscettibili alla malattia (limone, limoni simili, lima, cedro, arancio amaro e bergamotto) devono essere coperte con rete protettiva al 50% di ombreggiamento;
3. i terreni ed i substrati utilizzati devono essere esenti dai funghi *Phytophthora nicotianae* e *P. citrophthora*; tale assenza deve essere documentata;
4. i contenitori, di adeguato volume (almeno 8 litri), possono essere appoggiati direttamente sul terreno, in tal caso deve essere accertata l'assenza di *Phytophthora nicotianae*, *P. citrophthora*, oppure essere isolati con uno strato di:
 - brecciolino o altro materiale inerte che assicuri comunque un efficiente drenaggio, dell'altezza minima di cm 10, nel caso si utilizzino teli pacciamanti, l'altezza minima del vespaio si riduce a cm 5;
 - battuto di cemento o altro materiale, in tal caso i contenitori devono essere collocati su supporti dell'altezza di almeno cm 20;
5. le acque di irrigazione devono risultare o essere rese libere da propagali di *Phytophthora citrophthora* e *P. nicotianae*;
6. la densità delle piante non deve essere superiore a 8 piante per metro quadro;
7. l'area destinata all'allevamento delle piante in contenitore deve contemplare una fascia di bordo di m 2, costantemente lavorata o mantenuta libera da erbe infestanti;
8. le piante devono essere suddivise in lotti omogenei (per specie, cultivar, clone e portinnesto), ben individuabili e riportate su una mappa e della cui disposizione deve essere prodotta specifica documentazione al Servizio fitosanitario regionale competente per territorio;
9. l'innesto dei semenzali deve essere eseguito a non meno di cm 40 dal colletto su portinnesti di diametro minimo di cm 0,8;
10. eventuali reinnesti, per rimediare alle fallanze del primo innesto, devono essere eseguiti utilizzando materiale della stessa accessione, in tal caso è tollerato l'innesto a non meno di cm 35;
11. dalle piante delle sezioni incrementali il materiale di propagazione ben lignificato, può essere prelevato per due volte ad eccezione delle cultivar del gruppo "Tarocco" per le quali può essere eseguito un solo prelievo;
12. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.

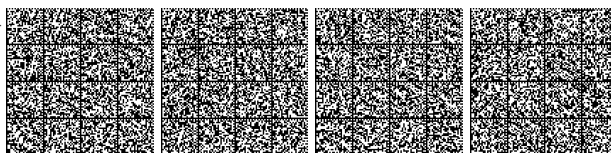


SEZIONE III - Vivai (Semenzai, Nestai e Piantonai)

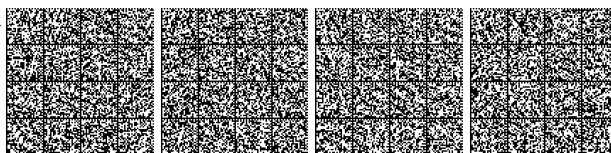
I vivai di piante certificabili devono essere ubicati in aree dichiarate dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio esenti da focolai di Tristezza (Citrus Tristeza Virus – CTV) e da altri organismi nocivi da quarantena, salvo ulteriori prescrizioni del Servizio fitosanitario medesimo.

Per la produzione di piante certificabili è ammesso solo l'allevamento fuori suolo. I vivai devono rispondere ai seguenti requisiti:

1. Devono essere utilizzati substrati esenti da *Phytophthora nicotianae*, *P. citrophthora* e da *Pratylenus vulnus*, *Tylenchulus semipenetrans*, tale assenza deve essere documentata;
2. le acque di irrigazione devono risultare o essere rese libere da propagali di *Phytophthora citrophthora* e *P. nicotianae*;
3. i cassoni utilizzati per la realizzazione dei semenzai devono essere isolati dall'afflusso delle acque superficiali e sub-superficiali e non devono essere a diretto contatto con il suolo ma sollevati di almeno 10 cm;
4. prima dell'utilizzo i cassoni devono essere trattati con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2%;



5. i contenitori, di adeguato volume, possono essere poggiati direttamente sul terreno, in tal caso esso deve essere documentata l'assenza di *Phytophthora nicotianae*, *P. citrophthora*, oppure essere isolati con uno strato di:
 - brecciolino o altro materiale inerte che assicuri comunque un efficiente drenaggio, dell'altezza minima di 10 cm; nel caso si utilizzino teli pacciamanti, l'altezza minima del vespaio si riduce a 5 cm;
 - battuto di cemento o altro materiale; in tal caso i contenitori devono essere collocati su supporti dell'altezza di almeno 20 cm;
6. i semenzali delle specie sensibili al mal secco devono essere posti sotto copertura con rete ombreggiante al 50% se distanti meno di 50 metri da impianti di limoni;
7. i semenzali da trasferire nel nestoio devono avere almeno 4-6 foglie completamente sviluppate, tali da poter distinguere gli ibridi naturali dai semenzali di origine nucellare;
8. le piante devono essere suddivise in lotti omogenei (per specie, cultivar, clone e portinnesto) costituiti da un massimo di 4 file, ben individuabili e riportati su una mappa;
9. i contenitori devono essere disposti ad una distanza non inferiore a cm 20 sulla fila e i lotti devono essere distanziati di almeno cm 50;
10. l'innesto deve essere eseguito a non meno di cm 30 dal colletto su portinnesti di diametro minimo di cm 0,6. Gli organi preposti al controllo possono autorizzare l'innesto ad altezza minore solo nei casi si utilizzino portinnesti nanizzanti. Eventuali reinnesti per rimediare alle fallanze del primo innesto, devono essere eseguiti utilizzando materiale della stessa accessione; in tal caso è tollerato l'innesto a non meno di cm 25 dal colletto;
11. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.



PARTE D
CONTROLLI SANITARI

SEZIONE I - materiali di categoria “Pre-base”, “Base” e “Certificato”

Virus, Spiroplasma, Viroidi e Virus-simili e Funghi

sono previsti due tipi di controlli:

1. Visivi: da effettuarsi su tutte le piante ed ogni anno, in concomitanza con il periodo di massima espressione sintomatologica delle singole malattie, ivi compreso il mal secco;
2. Saggi di laboratorio: eseguiti secondo i protocolli indicati nelle tabelle 1 e 2 del presente allegato.

Nelle sezioni incrementali e in vivaio sono previsti controlli visivi da effettuarsi su tutte le piante ed ogni anno, in concomitanza con il periodo di massima espressione sintomatologica delle singole malattie, ivi compreso il mal secco.

Tutto il materiale derivante dalla prima moltiplicazione della fonte primaria all'ingresso nel Centro di Conservazione per la Premoltiplicazione o nelle altre fasi deve essere singolarmente sottoposto agli accertamenti sanitari e di corrispondenza varietale secondo le procedure riportate nelle tabelle 1 e 2 del presente allegato.

SEZIONE II - terreni e sui substrati impiegati in ogni fase

Analisi micologica mediante isolamento su mezzi selettivi per *Phytophthora nicotianae*, *P. citrophthora* su campioni prelevati secondo le seguenti modalità di campionamento:

- sui substrati: sarà prelevato un campione ogni 5 m³, costituito da 10 subcampioni, per un volume complessivo di almeno 1 litro;
- sul terreno: prima dell'impianto e prima di qualsiasi lavorazione profonda 1 campione per ettaro costituito da 10 subcampioni per un volume complessivo di almeno 1 litro.

Analisi nematologica mediante tecniche di isolamento per *Pratylenchus vulnus*, *Tylenchulus semipenetrans* da eseguirsi su campioni prelevati secondo le seguenti modalità di campionamento:

- per i substrati: sarà prelevato un campione ogni 5 m³, costituito da 5 subcampioni, per un volume complessivo di almeno 1 litro;
- per i terreni: prima dell'impianto e prima di qualsiasi lavorazione profonda. 1 campione per ettaro costituito da 5 subcampioni per un volume complessivo di almeno 1 litro.

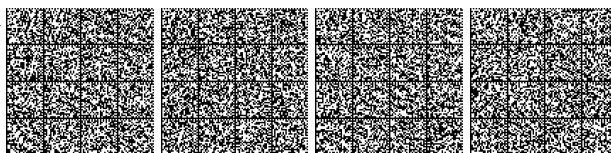


Tabella 1: Procedure per la verifica dello stato sanitario delle Pianta madri di categoria "Pre-Base" e "Base"

CONTROLLI						
Malattia o Organismo nocivo	Osservazioni visive		Saggio biologico		Saggio di laboratorio*: sierologico o molecolare	
	Epoca	Periodicità	Indicatore consigliato	Periodicità	Periodicità	Epoca e tipo di campione
VIRUS						
CTV	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Annuale	Limetta messicana	Ogni 5 anni	Su tutte le piante ogni anno	Foglie: prelevate in primavera ed in autunno (sino a temperature di 25°C)
CiLRV	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Annuale	Pompelmo	Ogni 3 anni a partire dal 3° anno		
CVV/CCLV	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Annuale	Limone Cedro Etrog		Su tutte le piante nell'arco di 3 anni	Fiori e foglie: dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C
CPsV	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Annuale	Arancio dolce cv <i>Madam Vinous</i>	Ogni 3 anni a partire dal 3° anno	Su tutte le piante nell'arco di 3 anni	Fiori: prelevati in primavera Foglie: prelevate in primavera ed autunno (sino a temperature di 25°C)
SDV CTLV	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Annuale	Dweet Tangor Citrange troyer	Su tutte le piante nell'arco di 6 anni		
ICRSV CVEV	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Annuale	Pompelmo, Cedro Etrog 861-SI Citrange troyer Limetta messicana	Su tutte le piante nell'arco di 6 anni		
SPIROPLASMI						



<i>Spiroplasma citri</i>	Dalla ripresa vegetativa	Annuale			Su tutte le piante nell'arco di 6 anni	
VIROIDI						
CEVd	Dalla ripresa vegetativa	Annuale	Cedro Etrog 861-S1	Su tutte le piante nell'arco di 5 anni a partire dal 5° anno	Su tutte le piante nell'arco di 5 anni a partire dal 5° anno	Foglie mature: prelevate in estate- inizio autunno
HSVd			Mandarino Parson' special su Limone rugoso			
VIRUS-SIMILI						
CCG, CCr	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Annuale	Arancio dolce cv <i>Pineapple</i> Pompelmo Limone rugoso	Su tutte le piante nell'arco di 6 anni a partire dal 6° anno dalla messa a dimora		
CI e KdV						
RLel	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Annuale				

* limitatamente a *Spiroplasma citri* il saggio di laboratorio consiste in un isolamento in coltura

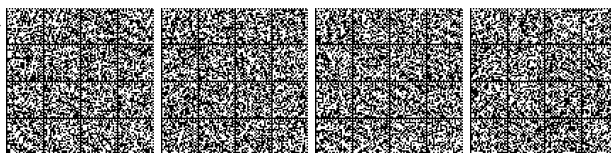
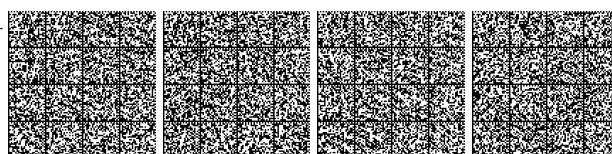


Tabella 2: Procedure per la verifica dello stato sanitario delle Pianta Madri di categoria "Certificato"

CONTROLLI						
Malattia o Organismo nocivo	Osservazioni visive		Saggio biologico		Saggio di laboratorio*: sierologico o molecolare	
	Epoca	Periodicità	Indicatore consigliato	Periodicità	Periodicità	Epoca e tipo di campione
VIRUS						
CTV	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Annuale			Su tutte le piante ogni anno	Foglie: prelevate in primavera ed in autunno (sino a temperature di 25°C)
ChLRV	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Annuale				
CVV/CCLV						
CPsV	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Annuale			Su tutte le piante nell'arco di 5 anni	Foglie: dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C (primavera ed autunno)
SDV						
CTLV	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Annuale				
SPIROPLASMI						
<i>Spiroplasma citri</i>	Dalla ripresa vegetativa	Annuale				
VIROIDI						
CEVd						
HSVd	Dalla ripresa vegetativa	Annuale			Su tutte le piante nell'arco di 5 anni a partire dal 5° anno	Foglie mature: prelevate in estate- inizio autunno



VIRUS-SIMILI				
CG, CCr, Cl, KdV e RL-eI	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Annuale		

* limitatamente a *Spiroplasma citri* il saggio di laboratorio consiste in un isolamento in coltura



PARTE E

CONTROLLI DI CORRISPONDENZA GENETICA

SEZIONE I - materiale di categoria “Pre-base” e “Base”

La certificazione di corrispondenza varietale per le cultivar e per i portinnesti è rilasciata dal Servizio fitosanitario regionale competente, dopo aver osservato un ciclo vegetativo e produttivo sufficiente a permettere di valutare la piena corrispondenza al fenotipo nel periodo di massima espressione fenologica.

Successivamente, durante l'epoca di maturazione, dovrà effettuarsi un controllo visivo annuale sulle caratteristiche produttive.

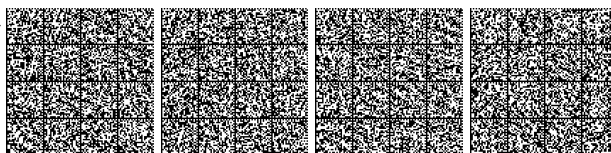
SEZIONE II - Piante Madri Certificate

La certificazione di corrispondenza varietale per le cultivar e per i portinnesti è rilasciata dal Servizio fitosanitario regionale competente, dopo aver osservato un ciclo vegetativo e produttivo, prima di potere procedere al prelievo del materiale certificato.

Successivamente, durante l'epoca di maturazione, dovrà effettuarsi un controllo visivo annuale sulle caratteristiche produttive.

SEZIONE III - Sezioni Incrementali

Sono previsti controlli visivi sulle caratteristiche vegetative delle piante.

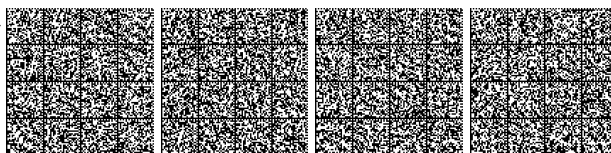


CAPO II – FRAGOLA

PARTE A

MALATTIE E ORGANISMI NOCIVI DI CUI DEVE ESSERE ACCERTATA L'ASSENZA NELLE
PIANTE MADRI DI CATEGORIA "PRE-BASE" E DEL MATERIALE DI CATEGORIA
"PREBASE", "BASE" E "CERTIFICATO" E RELATIVI SAGGI

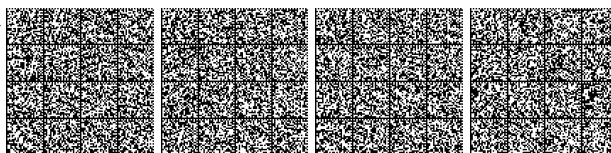
Agente eziologico / Malattia	Sigla	indicatori Saggi biologici	Test sierologici ELISA	Test biomolecolari
VIRUS				
Virus del falso ingiallimento del bordo della fragola (<i>Strawberry mild yellow edge virus</i>)	SMYEV	UC4 - UC5	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus del mosaico dell'arabis (<i>Arabis mosaic virus</i>)	ArMV	UC4 - UC5	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus dell'anulatura nera del pomodoro (<i>Tomato black ring virus</i>)	TBRV	UC4 - UC5	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della maculatura anulare del pomodoro (<i>Tomato ring spot virus</i>)	TRSV	UC4 - UC5	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della maculatura anulare del lampone (<i>Raspberry ring spot virus</i>)	RRSV	UC4 - UC5	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della maculatura anulare latente della fragola (<i>Strawberry latent ring spot virus</i>)	SLRV	UC4 - UC5	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della maculatura della fragola (<i>Strawberry mottle virus</i>)	SMV	UC4 - UC5		– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della scolorazione perinervale della fragola (<i>Strawberry vein banding virus</i>)	SVBV	UC4 - UC5		– RT-PCR – Real Time PCR
Virus dell'ariccimento della fragola (<i>Strawberry crinkle virus</i>)	SCV	UC4 - UC5		– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della necrosi del tabacco	TNV	UC4 - UC5	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR



<i>(Tobacco necrosis virus)</i>				
Virus striatura del tabacco <i>(Tobacco streak virus)</i>	TSV	UC4 - UC5	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus latente della Fragaria chiloensis <i>(Fragaria chiloensis latent virus)</i>	FCILV	UC4 - UC5		– RT-PCR – Real Time PCR
Virus associato alla pallidosi della fragola <i>(Strawberry pallidosis associated virus)</i>	SpaV	UC10 - UC11		– RT-PCR – Real Time PCR
Virus del falso ingiallimento della bietola (associato alla Pallidosi della fragola) <i>(Beet pseudo yellows virus)</i>	BPYV	UC10 - UC11		– RT-PCR – Real Time PCR
FITOPLASMI				
Fitoplasma del declino letale della fragola Strawberry letal decline (Stolbur) (XII*)	SLD			– PCR – Real Time PCR
Fitoplasma del giallume dell'astro Aster yellow (I*)	AY			– PCR – Real Time PCR
Fitoplasma della malattia Multiplier della fragola Multiplier disease (IV*)	MD			– PCR – Real Time PCR
Fitoplasma della virescenza della fragola Strawberry green petal (I*)	SGP			– PCR – Real Time PCR
Fitoplasma della clorosi marginale della fragola Strawberry marginal chlorosis (Stolbur) (XII*)	SMC			– PCR – Real Time PCR
Fitoplasma della virescenza della Vinca messicana Mexican periwinkle virescence (XIII*)	MPV			– PCR – Real Time PCR
Fitoplasma degli scopazzi della fragola Strawberry witches broom (I*)	WB			– PCR – Real Time PCR
AGENTI PATOGENI VIRUS-SIMILI				
Maculatura clorotica della fragola Strawberry chlorotic fleck	SCF	UC4 - UC5		
Accartocciamento fogliare della fragola Strawberry leaf roll	SLR	UC4 - UC5		



Foglia pennata della fragola Strawberry feather leaf	SFL	UC4 - UC5		
Ingiallimento nervale della fragola Strawberry vein yellowing	SVY	UC4 - UC5		
BATTERI				
<i>Xylella fastidiosa</i>	XFXF		– ELISA	PCR Real Time PCR
Batterio della maculatura angolare della fragola <i>Xanthomonas fragariae</i>	Xa.f.	isolamento diretto	– ELISA	PCR Real Time PCR
Batterio dell'avvizzimento fogliare della fragola <i>Xanthomonas arboricola pv fragariae</i>	X.a.	isolamento diretto	– IFAS	PCR Real Time PCR
FUNGI				
Antracnosi <i>Colletotrichum acutatum</i>	C.a.	isolamento diretto	– ELISA	PCR
NEMATODI				
		Saggi di microscopia		
<i>Meloidogyne hapla</i>		identificazione morfoanatomica		
<i>Pratylenchus vulnus</i>		identificazione morfoanatomica		
<i>Aphelenoides ritzemabosi</i>		identificazione morfoanatomica		
<i>Aphelenoides fragariae</i>		identificazione morfoanatomica		



PARTE B

CARATTERISTICHE TECNICHE DEI MEZZI E DELLE STRUTTURE NECESSARI
ALLA PRODUZIONE *IN VIVO* DEI MATERIALI DI CATEGORIA “PREBASE”**Strutture**

La fase di Conservazione per la Premoltiplicazione (CCP) deve essere effettuata in serre a rete a prova di insetto (screen house), essere collocata in zone libere da coltivazioni di fragole per un raggio di almeno m 100.

Le serre devono avere dimensioni tali da soddisfare lo sviluppo previsto in funzione del volume dei contenitori utilizzati e devono rispondere ai seguenti requisiti:

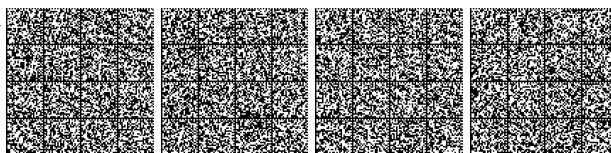
1. la pavimentazione deve garantire il completo isolamento tra i contenitori e il terreno o con il piano di calpestio che può essere realizzato:
 - con adeguato vespaio rifinito con brecciolino o altro materiale inerte che assicuri un efficiente drenaggio;
 - con battuto di cemento o altro materiale. In tal caso i contenitori, ed i bancali nei quali avviene la radicazione degli stoloni, devono essere opportunamente distanziati dal piano di calpestio, utilizzando appositi supporti di almeno 20 cm di altezza;
2. essere provviste di un vespaio perimetrale di almeno 80 cm di larghezza e di profondità, superiore di almeno 20 cm rispetto al piano interno;
3. provviste di un cordolo o di altri manufatti che assicurino l'isolamento dall'afflusso delle acque superficiali;
4. essere realizzate con tetto rigido e con pareti con una doppia rete con maglia 20/10 (20 fili/cm in ordito e 10 fili/cm in trama), provviste di vestibolo con pareti a doppia rete e con doppia porta;
5. disporre d'impianti idonei alla disinfezione delle attrezzature utilizzate, nonché di abbigliamento monouso per le persone che accedono ai locali di conservazione.

Allevamento

1. Le piante di categoria “prebase” devono essere allevate singolarmente in contenitori di idonee dimensioni;
2. le Piantе Madri devono essere numerate progressivamente in modo stabile in sito al momento dell'introduzione;
3. il substrato utilizzato deve essere esente dai nematodi *Longidorus elongatus*, *L. macrosoma*, *Xiphinema diversicaudatum*, *Meloidogyne hapla*, *Pratylenchus vulnus*, *Aphelenchoides ritzemabosi*, *A. fragariae*, *Ditylenchus dipsaci*; tale assenza deve essere documentata;
4. le Piantе Madri e le relative figlie di differenti accessioni devono essere fisicamente tenute separate mediante idonee strutture allo scopo di mantenere l'identità genetica ed evitare contaminazioni;
5. le piante di categoria “prebase”, sono ottenute dalla moltiplicazione diretta della fonte primaria mediante moltiplicazione per stolone o micropropagazione.

Produzione

1. Il materiale di “prebase” deve essere propagato in screen house nelle stesse condizioni sopra descritte.
2. Ogni cessione di materiale, da parte del Centro, deve essere registrata e comunicata tempestivamente (tramite fax e/o e-mail) al Servizio fitosanitario regionale competente per territorio.



PARTE C

CARATTERISTICHE TECNICHE DEI MEZZI E DELLE STRUTTURE NECESSARI
ALLA PRODUZIONE *IN VIVO* DEI MATERIALI DI CATEGORIA “BASE”

La produzione del materiale di categoria “base”, avviene in due fasi, secondo le seguenti modalità indicate nella Parte A e nella Parte B del presente allegato.

SEZIONE I - Fase di prima premoltiplicazione (CP1)**Strutture**

La prima fase di prima premoltiplicazione (CP1) deve avvenire in screen house aventi i seguenti requisiti:

1. pareti e soffitto di rete con maglia 20/10 (20 fili/cm in ordito e 10 fili /cm in trama) e provviste di vestibolo con doppia porta;
2. tutta la struttura deve garantire l'isolamento dalle acque superficiali e dall'ambiente circostante; deve inoltre garantire la protezione dalle acque meteoriche nel periodo autunno-invernale;
3. disporre d'impianti idonei alla disinfezione delle attrezzature utilizzate, nonché di abbigliamento monouso per le persone che accedono ai locali di conservazione;
4. la pavimentazione deve garantire il completo isolamento tra i contenitori e il terreno o con il piano di calpestio;
5. essere collocata in zone libere da coltivazioni di fragole per un raggio di almeno m 100;

Produzione

1. Ogni cessione di materiale, da parte del Centro, deve essere registrata e comunicata tempestivamente (tramite fax e/o e-mail) al Servizio fitosanitario regionale competente per territorio.
2. Le operazioni di estirpazione del materiale di “base1”, come pure l'eliminazione di piante madri, devono essere preventivamente comunicate al Servizio fitosanitario regionale competente per territorio.

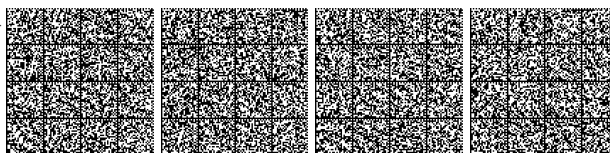
SEZIONE II - Fase di seconda premoltiplicazione (CP2)**Strutture**

La seconda fase di premoltiplicazione (CP2) può avvenire in pieno campo in terreni rispondenti ai seguenti requisiti:

1. il campo non deve aver ospitato colture di fragola negli ultimi 5 anni;
2. i terreni devono rispondere ai normali requisiti di idoneità agronomica e sanitaria, esenti dai nematodi *Longidorus elongatus*, *L. macrosoma*, *Xiphinema diversicaudatum*, *Meloidogyne hapla*, *Pratylenchus vulnus*, *Aphelenchoides ritzemabosi*, *A. fragariae*, *Ditylenchus dipsaci*; tale assenza deve essere documentata; inoltre i terreni devono essere disinfestati mediante geodisinfestanti ad azione nematocida rispettando la dose riportata in etichetta;
3. localizzati in zone libere da coltivazioni di piante di fragola per un raggio di m 500, tale distanza può essere ridotta a m 250 in caso di vicinanza con vivai costituiti completamente con materiale certificato, salvo diverse prescrizioni più restrittive prescritte dal Servizio fitosanitario regionale competente.

Allevamento

1. Le piante di categoria “Base” - seconda fase sono ottenute dalla moltiplicazione agamica del materiale di categoria “Base” - prima fase;
2. le piante di categoria “Base” possono provenire direttamente dalla fase di Conservazione per la Premoltiplicazione;



3. le piante devono essere tenute distinte per lotti in funzione di ciascuna pianta madre di origine.

Produzione

1. Ogni cessione di materiale, da parte del Centro, deve essere registrata e comunicata tempestivamente (tramite fax e/o e-mail) al Servizio fitosanitario regionale competente per territorio.
2. Le operazioni di estirpazione del materiale di base, come pure l'eliminazione di piante madri, devono avvenire sotto la responsabilità del responsabile del Centro di Premoltiplicazione e preventivamente comunicate al Servizio fitosanitario regionale competente.

PARTE D

CARATTERISTICHE TECNICHE DEI MEZZI E DELLE STRUTTURE NECESSARI ALLA PRODUZIONE *IN VIVO* DEI MATERIALI DI CATEGORIA "CERTIFICATO"

SEZIONE I - Piante in pieno campo

La moltiplicazione in vivaio deve avvenire in pieno campo in terreni con i requisiti sottoindicati:

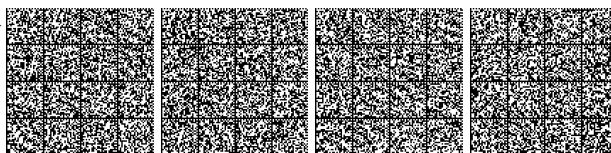
1. Il terreno deve rispondere ai normali requisiti d'idoneità agronomica e sanitaria e risultare esente da *Longidorus elongatus*, *L. macrosoma*, *Xiphinema diversicaudatum*, *Meloidogyne hapla*, *Pratylenchus vulnus*, *Aphelenchoides ritzemabosi*, *A. fragariae*, *Ditylenchus dipsaci*; tale assenza deve essere documentata; inoltre non deve aver ospitato fragola da almeno 4 anni, ridotti a 2 nel caso sia stata effettuata una idonea disinfestazione effettuata mediante geodisinfestanti ad azione nematocida rispettando la dose riportata in etichetta;
2. essere collocato in zone libere da impianti di fragole da frutto per un raggio minimo di m 250;
3. le parcelle devono essere omogenee, bene individuabili e separate da altro materiale vivaistico di categoria CAC da una fascia di bordo di almeno m 5; su indicazione del Servizio fitosanitario regionale competente per territorio, tali limiti possono essere ridotti qualora siano presenti barriere di protezione (fossati, scoline, canali, strade, capezzagne ecc.);
4. le parcelle devono essere costituite da file complete e distinte per varietà; possono essere ammesse su una stesa fila diverse varietà o cloni, a condizione che siano separate da un interspazio non inferiore a m 2, mantenuto libero da vegetazione;
5. le file di diverse varietà devono essere separate da un interspazio doppio, mantenuto libero da vegetazione;

Possono, inoltre, essere certificate per un solo ciclo, le piante figlie che necessitano di un ulteriore ciclo di coltivazione (Waiting Bed) a condizione che vengano poste ad ingrossare rispettando le medesime condizioni stabilite dal presente decreto per la fase della moltiplicazione. Per questa tipologia occorre comunicare al Servizio fitosanitario regionale i relativi quantitativi al momento della messa a dimora delle piante.

SEZIONE II - Piante allevate in contenitore

Possono essere certificate piante allevate in contenitore ottenute da stoloni prelevati nei vivai certificati, purché siano soddisfatti i seguenti requisiti:

1. i contenitori devono essere isolati dal terreno con brecciolino, battuto di cemento o altro materiale idoneo all'isolamento;
2. devono essere utilizzati substrati di torba o materiale inerte esenti dai nematodi: *Longidorus elongatus*, *L. macrosoma*, *Xiphinema diversicaudatum*, *Meloidogyne hapla*, *Pratylenchus vulnus*, *Aphelenchoides ritzemabosi*, *A. fragariae*, *Ditylenchus dipsaci*; tale assenza deve essere documentata;



3. l'area destinata all'allevamento delle piante di fragola deve contemplare una fascia di bordo di m 0,5 mantenuta libera da erbe infestanti;
4. le piante devono essere suddivise in lotti omogenei, ben individuabili;
5. fra gli appezzamenti destinati all'allevamento delle piante in contenitore e altri appezzamenti di materiale vivaistico di categoria CAC, deve essere presente una fascia di bordo di almeno 5 metri; su indicazione del Servizio fitosanitario regionale competente per territorio, tali limiti possono essere ridotti qualora siano presenti barriere di protezione (fossati, scoline, canali, strade, capezzagne ecc.);
6. fra le piante in contenitore e le coltivazioni di fragola da frutto deve esistere una distanza di almeno m 100;
7. il terreno deve essere isolato dall'afflusso di acque superficiali.

PARTE E

MEZZI NECESSARI PER LA PRODUZIONE *IN VITRO* DI MATERIALE

DI MOLTIPLICAZIONE CATEGORIA "PREBASE" E "BASE" DELLA FRAGOLA

1. La premoltiplicazione *in vitro* può essere effettuata, oltre che presso i Centri di Conservazione (CCP) ed di Premoltiplicazione (CP), anche presso uno o più laboratori di micropropagazione riconosciuti idonei dal Servizio fitosanitario regionale, attraverso la stipula di apposite convenzioni tra il Centro ed il laboratorio. In questo caso, per ogni accessione, dovrà pervenire al Servizio fitosanitario medesimo una specifica richiesta.
2. L'ambientamento del materiale proveniente dal *vitro* può essere effettuato, oltre che presso i Centri di Conservazione (CCP) e di Premoltiplicazione (CP), anche presso una o più strutture per l'ambientamento, riconosciute idonee dal Servizio fitosanitario regionale, mediante la stipula di apposite convenzioni tra il Centro e la struttura.
3. Il materiale di categoria "prebase" e "base" deve essere tenuto separato dal materiale di propagazione di qualsiasi altra categoria per mezzo di separatori fisici che ne assicurino l'isolamento a fini fitosanitari (serre, reti antiafide, ecc.).
4. Particolare attenzione dovrà essere rivolta al substrato su cui eseguire l'ambientamento che non dovrà possedere alcun patogeno, sarà quindi necessario utilizzare torbe controllate e di sicura provenienza, oppure substrati sterilizzati con sistemi fisici o chimici.
5. I prelievi iniziali degli espianti per la micropropagazione (moltiplicazione *in vitro* attraverso apici di stoloni di piante Virus esenti, gemme ascellari e meristemi apicali) devono essere effettuati solo su piante presenti presso i Centri di Conservazione per la Premoltiplicazione (CCP);
6. La fase successiva può prevedere un periodo di stabilizzazione *in vitro* del materiale non superiore ai 3 mesi, seguito da un numero di subcolture non superiore a 5.
7. Il rinnovo del materiale in premoltiplicazione deve avvenire entro 2 anni dall'espianto iniziale, a prescindere dal numero delle subcolture raggiunte.

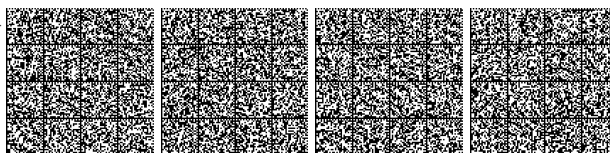
PARTE F

CONTROLLI FITOSANITARI

SEZIONE I - materiale di Categoria "Prebase"

Virus, fitoplasmi, funghi e batteri

Sono previsti due tipi di controlli:



1. visivi: da compiersi annualmente su tutte le piante presenti, in concomitanza dei periodi di maggiore espressione sintomatica;
2. saggi di laboratorio: tutte le piante in Conservazione per la premoltiplicazione (CCP) devono essere controllate annualmente e al momento dell'immissione nel CCP secondo le modalità indicate nella tabella 1 del presente allegato.

SEZIONE II - materiale di Categoria "Base"

Sono previsti due tipi di controlli:

1. visivi: da compiersi annualmente su tutte le piante presenti, in concomitanza dei periodi di maggiore espressione sintomatica;
2. saggi di laboratorio: da eseguire secondo le modalità di seguito specificate e secondo le modalità indicate alla tabella 1 del presente allegato:
 - **Virus e fitoplasmi:** le piante in premoltiplicazione devono essere controllate ogni anno nella misura del 2% delle piante madri per singola varietà per la fase CP1 e dello 0,2% delle piante madri per singola varietà per la fase CP2;
 - **Batteri:** devono essere controllate ogni anno nel CP1 tutte le piante madri con campione multiplo costituito da materiale proveniente al massimo da 5 piante; nel CP2, 5 piante per ogni lotto (come definito nell'Allegato 3, punto 27, del D.M. 4 maggio 2006), con campione multiplo costituito fino ad un massimo di 50 piante (10 lotti);
 - **Funghi:** devono essere controllate ogni anno nel CP1 il 30% delle piante madri; nel CP2, 5 piante per ogni lotto (come definito nell'Allegato 3, punto 27, del D.M. 4 maggio 2006), con campione multiplo costituito fino ad un massimo di 50 piante (10 lotti).

SEZIONE III - materiale di Categoria "Certificato"

Virus, fitoplasmi, funghi e batteri

Controlli visivi: da compiersi annualmente almeno 2 volte su tutte le piante presenti, in concomitanza dei periodi di maggiore espressione sintomatica;

Nel caso si riscontrino materiali con sintomi ascrivibili a malattie o organismi patogeni saranno effettuati saggi di laboratorio secondo quanto previsto alla tabella 1 del presente allegato.

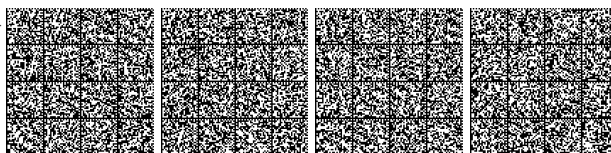
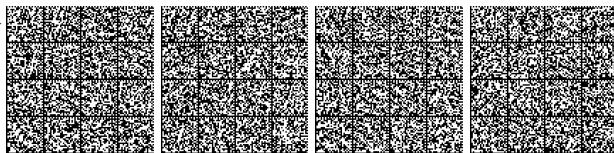


Tabella 1 Procedure per la verifica dello stato sanitario delle Pianta Madri di categoria “prebase”, “base” e “certificato”

CONTROLLI					
Malattia o Organismo nocivo	Osservazioni visive		Saggi biologici		Saggio di laboratorio: sierologico o molecolare
	Periodicità	Epoca	Indicatore consigliato	Periodicità, epoca e tipo di campione	Periodicità
VIRUS					
ArMV					
SMYEV					
TBRV					
TRSV					
RRSV					
SLRSV					
SMV	Annuale	Da luglio a ottobre	UC4-UC5	Annuale - da luglio a ottobre – Foglie	Annuale
SVBV	Annuale	Da luglio a ottobre	UC4-UC5	Annuale - da luglio a ottobre – Foglie	Annuale
SCV					
FITOPLASMI					



SLD							Periodo estivo – autunnale Piccioli e nervature fogliari – PCR- Real Time PCR
AY							Annuale
SGP							Annuale – Foglie
SMC							
WB							
BATTERI							
XF							Da settembre a dicembre – Pianta
Xa.f.							Isolamento diretto, IFAS, ELISA, PCR, Real Time PCR
Xa							Annuale
FUNGI							
C.a.							Da settembre a dicembre – Pianta
							Isolamento diretto, ELISA, PCR, Real Time PCR
NEMATODI							
<i>M. hapla</i>							
<i>P. vulnus</i>							
<i>A. fragariae</i>							
<i>A. ritzenabosi</i>							



PARTE G

CONTROLLI DI CORRISPONDENZA GENETICA

I controlli di corrispondenza genetica sono basati su osservazioni pomologiche, fenologiche agronomiche anche con il supporto di tecniche molecolari.

La certificazione varietale potrà essere rilasciata solo dopo aver condotto le osservazioni per un intero ciclo vegetativo ed aver controllato una fruttificazione, da piante prelevate secondo le modalità di seguito indicate.

SEZIONE I - Materiale in conservazione (pre-base)

Controlli visivi durante tutto il ciclo vegetativo, con particolare attenzione in corrispondenza della fioritura.

Da ogni pianta madre entro la prima decade di settembre dovranno essere prelevate almeno due piante figlie, ben radicate, prodotte su due catene stolonifere, che andranno contrassegnate individualmente (varietà, numero pianta madre, figlia n. 1 - 2).

Tali piante andranno immediatamente messe a dimora in campo, in modo da consentire, nella primavera successiva, il controllo su una quantità di frutti sufficiente a garantire la piena verifica della corrispondenza varietale.

Qualora si ritenga opportuno intensificare ed abbreviare i tempi di controllo, le piante potranno essere messe in vaso e poste, ai primi giorni di gennaio, in serra riscaldata con fotoperiodo lungo (16 ore/giorno).

SEZIONE II - Materiale in premoltiplicazione (CP1)

Controlli visivi durante tutto il ciclo vegetativo con particolare attenzione in corrispondenza della fioritura.

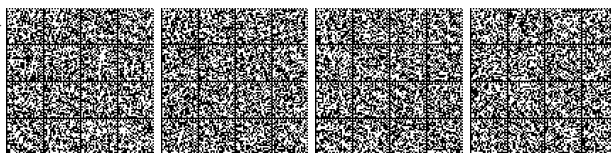
Da ogni pianta madre, entro la prima decade di settembre dovranno essere prelevate almeno 2 piante figlie, ben radicate, prodotte su due catene stolonifere, che andranno contrassegnate individualmente (varietà, numero pianta madre, figlia n. 1 - 2). Tali piante andranno immediatamente messe a dimora in campo, in modo da consentire, nella primavera successiva, il controllo su una quantità di frutti sufficiente a garantire la piena verifica della corrispondenza varietale.

SEZIONE III - Materiale in premoltiplicazione (CP2)

Controlli visivi ripetuti almeno tre volte. Dal 2% delle piante madri, entro la prima decade di settembre, dovranno essere prelevate almeno 2 piante figlie, ben radicate, prodotte su due catene stolonifere, che andranno contrassegnate individualmente (varietà, numero pianta madre, figlia n. 1 - 2). Tali piante andranno immediatamente messe a dimora in campo, in modo da consentire, nella primavera successiva, il controllo su una quantità di frutti sufficiente a garantire la piena verifica della corrispondenza varietale.

SEZIONE IV - Materiale in moltiplicazione (vivaio)

Controlli visivi al fine di verificare la corrispondenza varietale ed eventuali mescolanze.



CAPO III – OLIVO

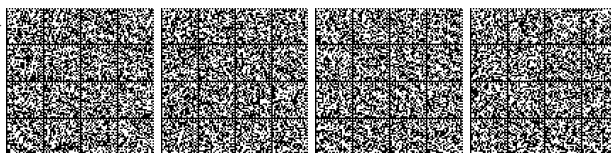
PARTE A

Agente eziologico / Malattia	Acronimo	Test Biomolecolari
------------------------------	----------	--------------------



MALATTIE E ORGANISMI NOCIVI DI CUI DEVE ESSERE ACCERTATA L'ASSENZA NELLE PIANTE
MADRI DI CATEGORIA "PRE-BASE" E DEL MATERIALE DI CATEGORIA "PREBASE", "BASE" E
"CERTIFICATO" E RELATIVI SAGGI

VIRUS		
Mosaico dell'Arabis	ArMV	– RT-PCR –
Accartocciamento fogliare del ciliegio	CLRV	– RT-PCR –
Maculatura anulare latente della fragola	SLRV	– RT-PCR –
Mosaico del cetriolo	CMV	– RT-PCR –
Latente 1 dell'olivo	OLV-1	– RT-PCR –
Latente 2 dell'olivo	OLV-2	– RT-PCR –
Associato all'ingiallimento fogliare dell'olivo	OLYaV	– RT-PCR –
Necrosi del tabacco	TNV	– RT-PCR –
FITOPLASMI		
Fitoplasmi		PCR
FUNGHI		METODO DIAGNOSTICO
Tracheovorticiliosi: <i>Verticillium dahliae</i>		Isolamento
BATTERI		METODO DIAGNOSTICO
Complesso del disseccamento rapido dell'olivo (CoDi.Ro) <i>Xyella fastidiosa</i>		ELISA
		PCR
		Real Time PCR
Rogna <i>Pseudomonas savastanoi pv savastanoi</i>		Isolamento



PARTE B
MEZZI NECESSARI ALLA CONDUZIONE E ALLA PRODUZIONE *IN VIVO*
DEI MATERIALI DI MOLTIPLICAZIONE DI CATEGORIA “PREBASE”

Strutture

La fase di Conservazione per la Premoltiplicazione deve essere effettuata in serre a rete a prova di insetto (screen house).

Le serre devono avere dimensioni tali da soddisfare lo sviluppo previsto in funzione del volume dei contenitori utilizzati e devono rispondere ai seguenti requisiti:

1. la pavimentazione deve garantire il completo isolamento tra i contenitori e il terreno o con il piano di calpestio che può essere realizzato
 - con adeguato vespaio rifinito con brecciolino o altro materiale inerte che assicuri un efficiente drenaggio;
 - con battuto di cemento o altro materiale. In tal caso i contenitori, i cassoni per i semenzai ed i bancali di ambientamento devono essere opportunamente distanziati dal piano di calpestio utilizzando appositi supporti di almeno 20 cm di altezza;
2. essere provviste di un vespaio perimetrale di almeno 80 cm di larghezza e di profondità, superiore di almeno 20 cm rispetto al piano interno;
3. provviste di un cordolo o di altri manufatti, dichiarati idonei dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio, che assicurino l'isolamento dall'afflusso delle acque superficiali;
4. essere realizzate con tetto rigido e con pareti a doppia rete, con maglia 20/10 (20 fili/cm in ordito e 10 fili/cm in trama), provviste di vestibolo con pareti a doppia rete e con doppia porta.

Allevamento e produzione

1. Il materiale di “Prebase” deve essere conservato e moltiplicato in screen house e deve essere allevato in contenitori di adeguato volume;
2. Il terriccio o il substrato utilizzato per i contenitori, per i semenzai, per la radicazione e per l'ambientamento deve essere esente dai nematodi *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *Pratylenchus vulnus*, *Xiphinema diversicaudatum* e dal fungo *Verticillium dahliae*, tale esenzione deve essere documentata;
3. I contenitori, i cassoni utilizzati per la radicazione, per l'ambientamento e per i semenzai devono essere sollevati di almeno 20 cm dal piano di calpestio;
4. Prima dell'utilizzo i cassoni utilizzati per la radicazione, per l'ambientamento e per i semenzai devono essere trattati con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2%;
5. Qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.



PARTE C

MEZZI NECESSARI ALLA CONDUZIONE ED ALLA PRODUZIONE *IN VIVO*

DEI MATERIALI DI MOLTIPLICAZIONE DI CATEGORIA “BASE”

SEZIONE I - Strutture**Campi di Piante Madri**

I campi di piante madri di “Base”, devono rispondere ai seguenti requisiti:

1. realizzati su terreni che rispondano ai normali requisiti di idoneità agronomica e sanitaria, esenti dal nematode *Xiphinema diversicaudatum* e dal fungo *Verticillium dahliae*, tale assenza deve essere documentata;
2. realizzati su terreni che non abbiano ospitato da almeno 5 anni altre specie arboree;
3. contemplare una fascia di bordo, tenuta libera da vegetazione, di almeno 20 metri dai campi limitrofi; detto limite
 - è elevato a 30 metri in presenza di piante arboree,
 - ridotto a 10 metri qualora venga accertata, dal Servizio fitosanitario regionale, l'assenza del nematode *Xiphinema diversicaudatum*, o qualora siano approntate apposite barriere di protezione (fossati, scoline, ecc.);
4. isolati dall'afflusso di acque superficiali;
5. le acque di irrigazione devono risultare o essere rese libere da organismi nocivi; tale assenza deve essere documentata;
6. il sesto d'impianto deve essere tale da permettere l'esecuzione delle normali pratiche colturali ed i relativi controlli;
7. le piante devono essere numerate progressivamente in modo stabile in sito;
8. nel campo le file devono essere complete e distinte per accessione, qualora su una stessa fila venissero allevate accessioni diverse, è obbligatoria la loro separazione con interspazio doppio;
9. le piante madri portamarze (PMM) possono essere conservate al massimo per 30 anni dall'impianto;
10. le piante madri portaseme (PMS) possono essere conservate al massimo per 40 anni dall'impianto;
11. gli impianti devono essere attivamente difesi al fine di contenere lo sviluppo di patogeni, parassiti e piante infestanti;
12. ogni cessione di materiale da parte del Centro di Premoltiplicazione (CP) deve essere registrata e comunicata tempestivamente (tramite fax e/o e-mail) al Servizio fitosanitario regionale competente per territorio ed a quello del destinatario finale;
13. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.

Sezioni Incrementali

Nelle sezioni incrementali le piante devono essere allevate in contenitore.

1. i contenitori, di adeguato volume, possono essere poggiati direttamente sul terreno, se accertato esente dal nematode *Xiphinema diversicaudatum* e dal fungo *Verticillium dahliae*, oppure devono essere isolati dal terreno mediante:
 - vespaio di brecciolino o altro materiale inerte che assicuri comunque un efficiente drenaggio, dell'altezza minima di 10 cm; nel caso si utilizzino teli pacciamanti, l'altezza minima del vespaio si riduce a 5 cm;
 - battuto di cemento o altro materiale; in tal caso i contenitori devono essere collocati su supporti dell'altezza di almeno 20 cm;
2. i substrati per l'allevamento delle piante in contenitore devono essere esenti dal nematode *Xiphinema diversicaudatum* e dal fungo *Verticillium dahliae*, tale assenza deve essere documentata;
3. l'area destinata all'allevamento in contenitore deve essere isolata dall'afflusso di acque superficiali e contemplare una fascia di bordo, tenuta libera da vegetazione, di almeno 2 m;
4. le piante devono essere numerate singolarmente in modo stabile in sito;



5. le piante devono essere suddivise in lotti omogenei per accessione, ben individuabili e della cui disposizione deve essere redatta apposita mappa;
6. le acque di irrigazione devono risultare o essere rese libere da organismi nocivi; tale assenza deve essere documentata;
7. libere da patogeni o loro vettori, tale assenza deve essere documentata;
8. dalle piante delle sezioni incrementali può essere prelevato materiale di propagazione per la costituzione di piante madri certificate, per un periodo massimo di 7 anni a partire dal 3° anno qualora i controlli di corrispondenza varietale vengano effettuati sulla fruttificazione o dal 1° anno qualora detti controlli siano di tipo molecolare;
9. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.

SEZIONE II - Produzione

Il materiale di "Base" nelle sezioni incrementali deve essere prodotto (piante innestate e autoradicate) fuori suolo.

Semenzai in cassone:

1. I cassoni fuori terra non devono essere a diretto contatto con il suolo ma sollevati di almeno 10 cm;
2. il substrato utilizzato deve essere esente dai nematodi *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *Pratylenchus vulnus*, *Xiphinema diversicaudatum* e dal fungo *Verticillium dahliae*;
3. prima dell'utilizzo il cassone deve essere trattato con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2%.

Nestai e Piantonai

1. L'area destinata alla realizzazione del nestajo o del piantonajo deve essere isolata dall'afflusso di acque superficiali e contemplare una fascia di bordo, tenuta libera da vegetazione, di almeno 2 m;
2. i substrati per l'allevamento delle piante in contenitore devono essere esenti dai nematodi *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *Pratylenchus vulnus*, *Xiphinema diversicaudatum* e dal fungo *Verticillium dahliae*, tale assenza deve essere documentata;
3. i contenitori, di adeguato volume, devono essere isolati dal terreno mediante:
 - vespaio di brecciolino o altro materiale inerte che assicuri comunque un efficiente drenaggio, dell'altezza minima di 10 cm; nel caso si utilizzino teli pacciamanti, l'altezza minima del vespaio si riduce a 5 cm;
 - battuto di cemento o altro materiale; in tal caso i contenitori devono essere collocati su supporti dell'altezza di almeno 20 cm;
4. le piante devono essere suddivise e numerate in lotti omogenei per accessione, ben individuabili, della cui disposizione deve essere redatta apposita mappa;
5. le acque di irrigazione devono risultare o essere rese libere da organismi nocivi; tale assenza deve essere documentata;
6. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.

Strutture per la radicazione e l'ambientamento

1. Le strutture per la radicazione e l'ambientamento devono essere sollevate di almeno 20 cm dal piano di calpestio o opportunamente isolate;
2. il substrato impiegato per la radicazione deve essere sterile; i substrati utilizzati per l'ambientamento devono essere esenti dai nematodi *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *Pratylenchus vulnus*, *Xiphinema diversicaudatum* e dal fungo *Verticillium dahliae*, tale assenza deve essere documentata;
3. prima dell'utilizzo il cassone deve essere trattato con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2%.



PARTE D

MEZZI NECESSARI ALLA CONDUZIONE E ALLA PRODUZIONE *IN VIVO*

DEI MATERIALI DI MOLTIPLICAZIONE DI CATEGORIA “CERTIFICATO”

SEZIONE I - Campi di Pianta Madri

I campi di piante madri certificate, portamarze (PMM) e portaseme (PMS), devono rispondere ai seguenti requisiti:

1. realizzati su terreni che rispondano ai normali requisiti di idoneità agronomica e sanitaria, esenti dal nematode *Xiphinema diversicaudatum* e del fungo *Verticillium dahliae*, tale assenza deve essere documentata;
2. essere realizzati su terreni che non abbiano ospitato da almeno 3 anni altre specie arboree;
3. isolati dall'afflusso di acque superficiali;
4. le acque di irrigazione devono risultare o essere rese libere da organismi nocivi; tale assenza deve essere documentata;
5. le piante devono essere numerate progressivamente in modo stabile in sito;
6. le file devono essere complete e distinte per accessione, qualora su una stessa fila venissero allevate accessioni diverse, è obbligatoria la loro separazione con interspazio doppio; della disposizione delle piante deve essere prodotta apposita mappa;
7. avere una fascia di bordo, tenuta libera da vegetazione, di almeno 10 metri dai campi limitrofi; detto limite
 - è elevato a 20 metri in presenza di piante arboree,
 - ridotto a 5 metri qualora venga accertata, dal Servizio fitosanitario regionale l'assenza del nematode vettore (*Xiphinema diversicaudatum*) o qualora siano approntate apposite barriere di protezione (fossati, scoline, ecc.);
8. le piante madri portamarze (PMM) possono essere conservate al massimo per 30 anni dall'impianto;
9. le piante madri portaseme (PMS) possono essere conservate al massimo per 40 anni dall'impianto;
10. gli impianti devono essere attivamente difesi al fine di contenere lo sviluppo di patogeni, parassiti e di piante infestanti;
11. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.

SEZIONE II - Sezioni Incrementali

Nelle sezioni incrementali le piante possono essere allevate in piena terra e fuori suolo.

Sezioni incrementali in piena terra

1. l'impianto deve essere realizzato su terreno che risponda ai normali requisiti di idoneità agronomica e sanitaria, esente dal nematode *Xiphinema diversicaudatum* e dal fungo *Verticillium dahliae*, tale assenza deve essere documentata;
2. l'impianto deve essere realizzato su terreno che non abbiano ospitato da almeno 3 anni altre specie arboree;
3. avere una fascia di bordo, tenuta libera da vegetazione, di almeno 10 metri dai campi limitrofi; detto limite
 - è elevato a 20 metri in presenza di piante arboree,
 - ridotto a 5 metri qualora venga accertata dal Servizio fitosanitario regionale l'assenza del nematode vettore (*Xiphinema diversicaudatum*) o qualora siano approntate apposite barriere di protezione (fossati, scoline, ecc.);
4. i terreni devono essere isolati dall'afflusso di acque superficiali e le acque di irrigazione devono risultare o essere rese libere da patogeni o loro vettori, tale assenza deve essere documentata;



5. le piante devono essere numerate progressivamente in modo stabile in sito;
6. le accessioni in moltiplicazione devono essere distinte in parcelle ben individuabili della cui disposizione deve essere prodotta apposita mappa;
7. nel campo le file devono essere complete e distinte per accessione; qualora su una stessa fila venissero allevate accessioni diverse è obbligatoria la loro separazione con interspazio doppio;
8. dalle piante delle sezioni incrementali può essere prelevato materiale di propagazione per la costituzione di piante madri certificate, per un periodo massimo di 7 anni a partire dal 3° anno qualora i controlli di corrispondenza varietale vengano effettuati sulla fruttificazione o dal 1° anno qualora detti controlli siano di tipo molecolare;
9. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.

Sezioni incrementali in contenitori

1. L'area destinata all'allevamento delle piante fuori suolo deve contemplare una fascia di bordo tenuta libera da vegetazione di almeno 2 metri;
2. i substrati per l'allevamento delle piante in contenitore devono essere esenti dal nematode *Xiphinema diversicaudatum* e dal fungo *Verticillium dahliae*, tale assenza deve essere documentata;
3. i contenitori, di adeguato volume, possono essere poggiati direttamente sul terreno, se accertato esente dal nematode *Xiphinema diversicaudatum* e dal fungo *Verticillium dahliae*, oppure devono essere isolati dal terreno mediante:
 - vespaio di brecciolino o altro materiale inerte che assicuri comunque un efficiente drenaggio, dell'altezza minima di 10 cm; nel caso si utilizzino teli pacciamanti, l'altezza minima del vespaio si riduce a 5 cm;
 - battuto di cemento o altro materiale; in tal caso i contenitori devono essere sollevati su supporti dell'altezza di almeno 20 cm;
4. l'area destinata all'allevamento in contenitore deve essere isolata dall'afflusso di acque superficiali;
5. le piante devono essere numerate e suddivise in lotti omogenei per accessione, ben individuabili e della cui disposizione deve essere prodotta apposita mappa;
6. le acque di irrigazione devono risultare o essere rese libere da organismi nocivi; tale assenza deve essere documentata;
7. dalle piante delle sezioni incrementali può essere prelevato materiale di propagazione per la costituzione di piante madri certificate, per un periodo massimo di 7 anni a partire dal 3° anno qualora i controlli di corrispondenza varietale vengano effettuati sulla fruttificazione o dal 1° anno qualora detti controlli siano di tipo molecolare;
8. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.

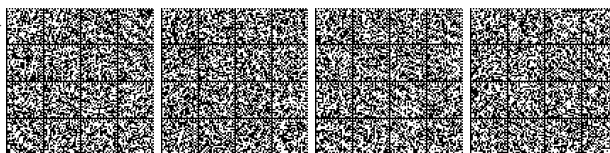
SEZIONE III - Vivai

Semenzai, Nestai e Piantonai in piena terra

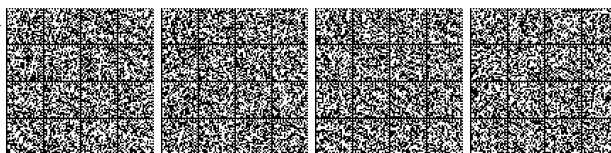
1. I terreni utilizzati per la realizzazione dei semenzai, nestai e piantonai devono essere esenti dai nematodi *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *Pratylenus vulnus*, *Xiphinema diversicaudatum* e dal fungo *Verticillium dahliae*, tale assenza deve essere documentata;
2. l'area destinata all'allevamento delle piante di olivo certificate in piena terra (nestai e piantonai) e alla realizzazione dei semenzai deve avere una fascia di bordo, tenuta libera da vegetazione, di almeno 2 metri dai campi limitrofi, tale limite è elevato a 10 metri in presenza di piante arboree;
3. le piante devono essere suddivise in lotti omogenei, ben individuabili, destinati interamente ed esclusivamente all'allevamento delle piante di olivo; della disposizione delle piante deve esserne fatta comunicazione al Servizio fitosanitario regionale competente per territorio;
4. l'area destinata all'allevamento delle piante deve essere isolata dall'afflusso delle acque superficiali e sub-superficiali;
5. le acque di irrigazione devono risultare o essere rese libere da organismi nocivi; tale assenza deve essere documentata;

Semenzai, Nestai e Piantonai fuori suolo

1. I cassoni utilizzati per la semina, per l'ambientamento e per la radicazione e l'area destinata all'allevamento delle piante certificate fuori suolo devono essere isolati dall'afflusso delle acque superficiali e sub-superficiali;
2. I cassoni utilizzati per la semina, per l'ambientamento e per la radicazione, non devono essere a diretto contatto con il suolo ma sollevati di almeno 10 cm;



3. prima dell'utilizzo il cassone deve essere trattato con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2%.
4. le piante devono essere allevate in contenitori di adeguato volume;
5. l'area destinata all'allevamento delle piante di olivo certificate fuori suolo deve contemplare una fascia di bordo tenuta libera da vegetazione di almeno 2 metri;
6. per l'isolamento dei contenitori dal terreno deve essere utilizzato
 - vespaio di brecciolino di almeno 10 cm oppure di 5 cm qualora si utilizzino teli pacciamanti;
 - battuto di cemento o altro materiale; in tal caso i contenitori devono essere collocati su supporti dell'altezza di almeno 20 cm dal piano di calpestio;
7. nel caso i contenitori siano poggiati sul terreno, questo deve essere esente dai nematodi *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *Pratylenus vulnus*, *Xiphinema diversicaudatum* e dal fungo *Verticillium dahliae*, tale assenza deve essere documentata;
8. il terriccio ed i substrati utilizzati per la realizzazione dei semenzai, per l'ambientamento, per la radicazione e per l'allevamento devono essere esenti dai nematodi *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *Pratylenus vulnus*, *Xiphinema diversicaudatum* e dal fungo *Verticillium dahliae*;
9. le piante devono essere suddivise in lotti omogenei, ben individuabili, destinati interamente ed esclusivamente all'allevamento delle piante di olivo; la disposizione delle piante deve essere comunicata al Servizio fitosanitario regionale competente per territorio;
10. le acque di irrigazione devono risultare o essere rese libere da organismi nocivi; tale assenza deve essere documentata;
11. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.



PARTE E

MEZZI NECESSARI PER LA PRODUZIONE *IN VITRO* DI MATERIALE DI MOLTIPLICAZIONE CATEGORIA “PREBASE”, “BASE” E “CERTIFICATO”**SEZIONE I - Produzione *IN VITRO* di materiale Categoria “Prebase” e “Base”**

1. I prelievi iniziali degli espianti per la micropropagazione (moltiplicazione *in vitro* attraverso gemme ascellari) devono essere effettuati solo su individui coltivati presso i Centri di Conservazione per la Premoltiplicazione (CCP);
2. le operazioni di trapianto devono essere annotate giornalmente su di un registro di prima nota e settimanalmente su apposito registro di carico e scarico, con pagine non asportabili, numerate progressivamente e vidimate dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio. Il registro deve essere mantenuto costantemente nel laboratorio, a disposizione di eventuali controlli. Nel registro sono annotati anche i contenitori eliminati per inquinamenti e/o anomalie morfo-fisiologiche delle colture, oltre ai contenitori trasferiti in frigorifero. Il registro potrà contenere cancellature che devono essere effettuate con un tratto di penna che consenta la lettura di quanto scritto in precedenza;
3. la durata complessiva delle subcolture di proliferazione in conservazione e in premoltiplicazione non dovrà superare i 4 anni, mentre complessivamente eventuali periodi di frigoconservazione non dovranno superare i 12 mesi. Dopo tale periodo si ripartirà con un nuovo prelievo di espianti dal Centro di Conservazione per la Premoltiplicazione (CCP);
4. per predisporre le colture *in vitro* in attiva moltiplicazione da consegnare ai laboratori, si possono effettuare in premoltiplicazione un numero massimo di 10 (dieci) subcolture (anche intercalata da un periodo - non più di uno - di conservazione frigorifera) successive a quella iniziale necessaria a dare inizio alla coltura sterile;
5. non è ammessa la micropropagazione di cloni chimerici per l'elevato rischio di non corrispondenza delle piante micropropagate al fenotipo di partenza;
6. non è consentito utilizzare sostanze con possibile azione mutagena né sistemi di colture con organismi batterici per agevolare specifiche fasi;
7. nel procedimento di moltiplicazione e radicazione, i laboratori devono adottare le seguenti precauzioni:
 - eliminare i germogli eventualmente originatisi da tessuti indifferenziati (callo);
 - eliminare la parte basale del ciuffo dei germogli al momento del trapianto ove è più frequente la proliferazione di tessuto indifferenziato;
 - utilizzare solo germogli originati da gemme ascellari;
 - eliminare le colture vitrescenti e/o con altre anomalie morfofisiologiche (fasciazioni in particolare);
8. i vasi di coltura devono essere mantenuti in un settore predeterminato e ben identificato del laboratorio e contrassegnati singolarmente, in modo da essere agevolmente identificabili, tramite etichette, su cui riportare la data, il numero progressivo di subcoltura e la fase culturale: proliferazione, allungamento o radicazione;
9. i bancali per l'ambientamento devono rispettare le caratteristiche riportate negli allegati 3 e 4 del presente disciplinare.

SEZIONE II - Produzione *IN VITRO* di materiale Categoria “Certificato”

1. I laboratori commerciali devono richiedere, con lettera raccomandata, al Centro di Premoltiplicazione (CP) il numero iniziale di germogli sterili per ogni selezione. La consegna delle colture, in attiva moltiplicazione da parte dei Centri di Premoltiplicazione (CP), avverrà entro 6 mesi dalla richiesta. Sarà possibile raggiungere, nella moltiplicazione commerciale *in vitro*, un massimo di 36 (trentasei) subcolture (anche se intercalate da un periodo - non più di uno - di conservazione frigorifera). Al termine della trentaseiesima subcoltura i germogli dovranno venire trasferiti o alla fase di allungamento o a quella di radicazione (nel corso o al termine di questa è ammesso un periodo di conservazione frigorifera, anche se ve ne è stato un altro in precedenza);
2. la durata complessiva delle subcolture di proliferazione nella fase di moltiplicazione non dovrà superare i 4 anni, mentre complessivamente eventuali periodi di frigoconservazione non dovranno superare i 12 mesi. Dopo tale periodo si ripartirà con nuovi germogli sterili;



3. i vasi di coltura devono essere mantenuti in un settore predeterminato e ben identificato del laboratorio e contrassegnati singolarmente, in modo da essere agevolmente identificabili, tramite etichette, su cui riportare la data, il numero progressivo di subcoltura e la fase colturale: proliferazione, allungamento o radicazione;
4. le operazioni di trapianto devono essere annotate giornalmente su apposito registro di carico e scarico, con pagine non asportabili, numerate progressivamente e vidimate dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio. Il registro deve essere mantenuto costantemente nel laboratorio a disposizione di eventuali controlli. Nel registro sono annotati anche i contenitori eliminati per inquinamenti e/o anomalie morfofisiologiche delle colture, oltre ai contenitori trasferiti in frigorifero. Il registro potrà contenere cancellature che devono essere effettuate con un tratto di penna che consenta la lettura di quanto scritto in precedenza.

PARTE F CONTROLLI SANITARI

Parte A – Sul materiale di categoria “Prebase”, “Base” e “Certificato”

Per virus, fitoplasmi e funghi sono previsti due tipi di controlli:

1. Visivi: da effettuarsi su tutte le piante ed ogni anno, in concomitanza con il periodo di massima espressione sintomatologica delle singole malattie.
2. Saggi diagnostici: da eseguirsi con i metodi riportati nelle tabelle 1 e 2 del presente allegato.

Nelle sezioni incrementali ed in vivaio sono previsti controlli visivi da effettuarsi su tutte le piante ed ogni anno, in concomitanza con il periodo di massima espressione sintomatologica delle singole malattie.

Parte B – Sul terreno e sui substrati impiegati in ogni fase

Analisi micologica mediante isolamento su mezzi selettivi per *Verticillium dahliae* da eseguirsi su campioni prelevati con la seguente modalità di campionamento:

- terreno: prima dell’impianto e prima di qualsiasi lavorazione profonda, sarà prelevato 1 campione per ettaro costituito da 10 subcampioni, per un volume complessivo di almeno 1 litro;
- substrati: sarà prelevato un campione ogni 5 m³, costituito da 10 subcampioni, per un volume complessivo di almeno 1 litro.

Analisi nematologica mediante tecniche di isolamento per *Xiphinema diversicaudatum*, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *Pratylenchus vulnus* da eseguirsi su campioni prelevati con la seguente modalità di campionamento:

- terreno: prima dell’impianto e prima di qualsiasi lavorazione profonda, sarà prelevato 1 campione per ettaro costituito da 5 subcampioni, per un volume complessivo di almeno 1 litro;
- substrati: sarà prelevato un campione ogni 5 m³, costituito da 5 subcampioni, per un volume complessivo di almeno 1 litro.

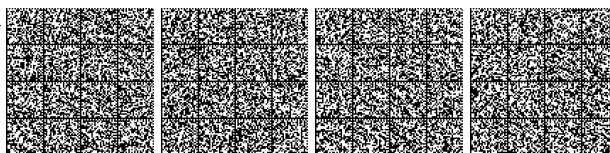
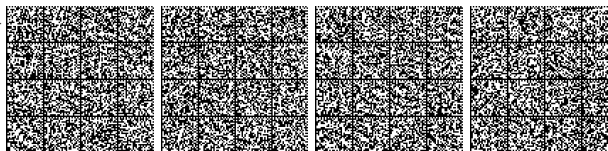


Tabella 1: Procedure per la verifica dello stato sanitario delle Piante Madri di categoria "Prebase" e "Base"

CONTROLLI					
Malattia e/o Organismo nocivo	Osservazioni visive		Saggi di laboratorio		
	Epoca	Periodicità	Tipo di campione ed epoca	Tecnica	Periodicità
VIRUS					
ArMV	Primavera ed autunno	Annuale	<u>Tessuto corticale prelevato da rami ben significati</u> : in primavera o inizio autunno	RT- PCR	Sul 10% delle piante ogni anno a partire dal 5° anno
CLRV					
SLRV					
OLV-1					
OLYaV					
OLV-2					
OLRV					
CMV					
TNV					
FITOPLASMI					
Fitoplasmi	Primavera	Annuale		Amplificazione genica mediante reazione a catena della polimerasi (PCR).	In casi dubbi
FUNGHI					



Tracheoverticillosi: <i>Verticillium dahliae</i>	Da aprile a settembre	Annuale	tessuti vascolari di porzioni di ramo di 1-2 anni di età.	isolamento	In casi dubbi
BATTERI					
<i>Xylella fastidiosa</i> (Complesso del disseccamento rapido dell'olivo)		Annuale	Foglie e rametti	ELISA, PCR, Real Time PCR	In casi dubbi
<i>Pseudomonas savastanoi pv savastanoi</i> (Rogna)	Primavera ed autunno	Annuale			

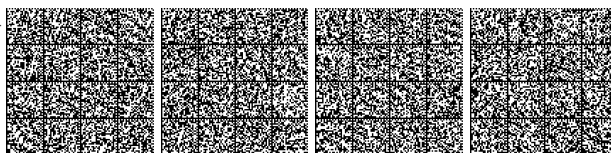
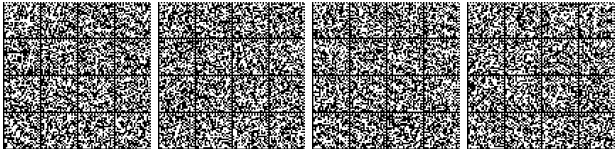


Tabella 2: Procedure per la verifica dello stato sanitario delle Pianta Madri di categoria "Certificato"

CONTROLLI				
Malattia e/o Organismo nocivo	Osservazioni visive		Saggi di laboratorio	
	Epoca	Periodicità	Tipo di campione ed epoca	Tecnica
VIRUS				
ArMV	Primavera ed autunno	Annuale	<u>Tessuto corticale prelevato da rami ben lignificati</u> in primavera o inizio autunno	RT- PCR
CLRV				
SLRV				
OLV-1				
OLYaV				
OLV-2				
OLRV				
CMV	Primavera	Annuale		Amplificazione genica mediante reazione a catena della polimerasi (PCR).
TNV				
FITOPLASMI				
Fitoplasmii	Da aprile a settembre	Annuale	Tessuti vascolari di porzioni di ramo di 1-2 anni di età.	In casi dubbi
FUNGHI				
Tracheovorticiliosi: <i>Verticillium dahliae</i>	Da aprile a settembre	Annuale	Tessuti vascolari di porzioni di ramo di 1-2 anni di età.	In casi dubbi



BATTERI					
<i>Xylella fastidiosa</i> (Complesso disseccamento dell'olivo)	del rapido		Annuale	Foglie e rametti	ELISA, PCR, Real Time PCR
<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv <i>savastanoi</i> (<i>Rognia</i>)		Primavera ed autunno	Annuale		In casi dubbi



PARTE G

CONTROLLI DI CORRISPONDENZA VARIETALE O SELEZIONE CLONALE

La certificazione di corrispondenza genetica è basata su osservazioni pomologiche ed agronomiche. In alternativa può essere effettuata anche con il supporto di tecniche molecolari qualora la fonte primaria immessa nei canali della certificazione nazionale sia stata corredata di idonea documentazione molecolare.

SEZIONE I - materiale di Categoria “Prebase” e “Base”

Per le cultivar e per i cloni di olivo destinati alla produzione dei frutti, la corrispondenza varietale potrà essere certificata solo dopo:

- aver osservato almeno una fruttificazione, oppure
- attraverso analisi del DNA effettuata con una o più tecniche (RAPD, RFLP, AFLP ecc.) ritenute appropriate, secondo le modalità fornite dal costituente al momento della registrazione della Fonte Primaria, in grado di distinguere la cultivar o il clone, a seconda che si tratti della registrazione di una cultivar o di un nuovo clone.

La certificazione di corrispondenza genetica per i portinnesti clonali potrà essere rilasciata solo dopo:

- avere effettuato almeno due cicli vegetativi annuali di propagazione in vivaio ed averne verificato la corrispondenza al fenotipo, oppure,
- attraverso analisi del DNA effettuata con una o più tecniche ritenute appropriate, secondo le modalità fornite dal costituente (RAPD, RFLP, AFLP ecc.) al momento della registrazione della Fonte Primaria.

Nel caso di verifica di corrispondenza genetica per chiave morfologica, nei primi uno-due anni di fioritura e di fruttificazione andranno effettuati, e ripetuti ogni anno in tutti i suddetti tipi di materiale, almeno due controlli durante il ciclo vegetativo in corrispondenza delle fasi fenologiche: fioritura, epoca di raccolta dei frutti.

SEZIONE II - Pianta Madre “Certificate”

Prima di poter procedere al prelievo di materiale certificato la corrispondenza varietale su tutte le piante sarà rilasciata dal Servizio fitosanitario regionale competente, dopo

- avere osservato almeno una fruttificazione, oppure
- attraverso analisi del DNA con una o più tecniche ritenute appropriate, secondo le modalità fornite dal costituente (RAPD, RFLP, AFLP ecc.) al momento della registrazione della Fonte Primaria.

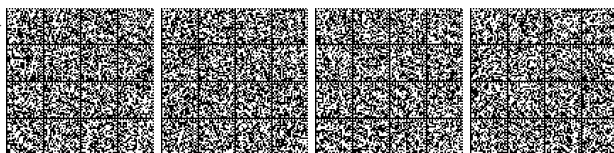


CAPO IV - POMOIDEE

PARTE A

MALATTIE E ORGANISMI NOCIVI DI CUI DEVE ESSERE ACCERTATA L'ASSENZA NELLE PIANTE
MADRI DI CATEGORIA "PRE-BASE" E DEL MATERIALE DI CATEGORIA "PREBASE", "BASE" E
"CERTIFICATO" E RELATIVI SAGGI

Melo					
Agente eziologico / Malattia	Sigla	indicatori arborei saggi biologici **		Test	Test Biomolecolari**
		Serra	Campo	Microscopi ci / Sierologici	
VIRUS					
Virus del mosaico del melo <i>(Apple mosaic virus)</i>	ApMV	– <i>M. pumila</i> Charden	– <i>M. pumila</i> Golden D. – <i>M. pumila</i> L <i>Lambourne</i>	– ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della butteratura del legno del melo <i>(Apple stem pitting virus)</i>	ASPV	– <i>Pyronia veitchii</i> – <i>M. pumila</i> Spy 227 – <i>M. pumila</i> Virginia <i>Crab</i> – <i>M. pumila</i> Kola – <i>M. pumila</i> Radiant	– <i>Pyronia veitchii</i> – <i>M. pumila</i> Spy 227 – <i>M. pumila</i> Virginia <i>Crab</i>		– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della maculatura clorotica fogliare del melo <i>(Apple chlorotic leaf spot virus)</i>	ACLSV	– <i>Malus platycarpa</i> – <i>M. sylvestris</i> R12740 7A – <i>Cydonia oblonga</i> C7/I – <i>Cydonia oblonga</i> <i>Pigwa</i>	– <i>Malus platycarpa</i> – <i>Malus sylvestris</i> R12740 7A	– ELISA	– Real Time PCR RT-PCR
Virus della scanalatura del tronco del melo <i>(Apple stem grooving virus)</i>	ASGV	– <i>M. pumila</i> Virginia <i>Crab</i> – <i>M. micromalus</i> GMAL273	– <i>M pumila</i> Virginia Crab	– ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
VIROIDI					
Viroide dell'infossatura crateriforme della mela <i>(Apple dimple fruit viroid)</i>	ADFVd		– <i>M. pumila</i> Delicious <i>rosse</i>		– RT-PCR – Real Time PCR –
Viroide dell'ulcerazione delle mele <i>(Apple scar skin viroid)</i> = Viroide della chiazzeria delle mele <i>(Dapple apple)</i>	ASSVd = DAVd	– <i>M. pumila</i> Stark's <i>Earliest</i> – <i>M. pumila</i> Sugar <i>Crab</i>	– <i>M. pumila</i> Delicious <i>rosse</i>		– RT-PCR – Real Time PCR –
BATTERI					
Colpo del fuoco	Ea			Secondo il protocollo EPPO	

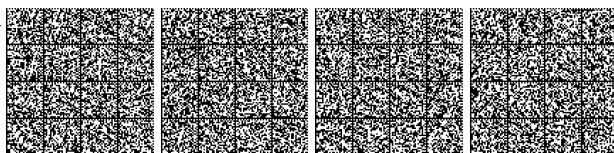


<i>Erwinia amylovora</i>					
FITOPLASMI					
Fitoplasma degli scopazzi del melo (<i>Apple Proliferation, Candidatus phytoplasma mali</i>)	AP	– <i>M. pumila</i> Charden	– <i>M. pumila</i> Golden D.	–	– PCR – Real Time PCR
AGENTI PATOGENI VIRUS-SIMILI					
Mal del caucciù del melo (<i>Apple rubbery wood</i>)0	ARW				
= Plastomania del melo (<i>Apple flat limb</i>)	AFL	– <i>Prunus avium</i> Mazzard – <i>Prunus avium</i> F12/1	– <i>M. pumila</i> L. Lambourne – <i>M. pumila</i> Gravensteiner		
= Mela nana (<i>Apple chat fruit</i>)	ACF				
MALATTIE RESPONSABILI DI ALTERAZIONI SUI FRUTTI					
Anulatura rugginosa (<i>russet ring</i>)	ARRV				
Gibbosità verde (<i>green crinkle</i>)	GCV				
Rugginosità ulcerosa (<i>rough skin</i>)	ARSk				
Spaccatura stellare (<i>star crack</i>)	ASC		– <i>M. pumila</i> Golden D.		
Verrucosità rugginosa (<i>russet wart</i>)	ApRWa				
Anulatura concentrica (<i>ring spot</i>)	ApRS				

Pero e Cotogno					
Agente eziologico / Malattia	Sigla	indicatori arborei saggi biologici **		Test	Test Biomolecolari**
		Serra	Campo	Microscopi ci/ Sierologici	
VIRUS					
Virus della butteratura del legno del melo (Apple stem pitting virus)	ASPV	– <i>Pyronia veitchii</i> – <i>Malus pumila</i> Spy 227 – <i>M. pupila</i> Virginia crab – <i>P. communis</i> Noveau	– <i>Pyronia veitchii</i> – <i>M. pumila</i> Spy 227 – <i>Malus pumila</i> – <i>Virginia</i> crab	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR

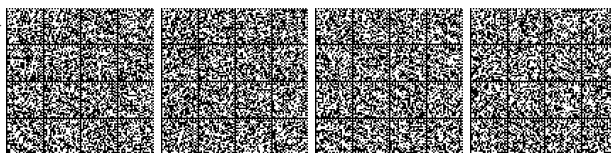


		Poiteau – P. communis Julesd’Airolles – Pyrus communis A 20			
Virus della maculatura clorotica fogliare del melo (Apple chlorotic leaf spot virus)	ACLSV	– Malus sylvestris R12740 7A – Cydonia oblonga C7/1 – Cydonia oblonga Pigwa – Malus platycarpa – Pyronia veitchii – P. communis Nouveau Poiteau – Pyrus communis A 20 – P. communis. Beurre Hardy	– Malus platycarpa – Malus sylvestris – R12740 7A	– ELISA	– Real Time PCR RT-PCR
Virus della scanalatura del tronco del melo (Apple stem grooving virus)	ASGV	– M. pumila Virginia Crab – M. micromalus GMAL273 – Pyronia veitchii	– Malus pumila – Virginia crab	– ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
VIROIDI					
Viroide del cancro pustoloso del pero (Pear blister canker viroid)	PBCVd	–	– Pyrus communis – Fieud 37 – P. communis A 20		– RT-PCR – Real Time PCR
Viroide della buccia rugginosa delle pere (Apple scar skin viroid)	ASSVd	–	– Stark’s Earliest – Sugar Crab – Delicious rosse – Starkrimson		– RT-PCR – Real Time PCR
BATTERI					
Xylella fastidiosa	XF			ELISA, PCR, Real Time PCR	
Colpo del fuoco Erwinia amylovora	Ea			Secondo il protocollo EPPO	
more batterico robacterium tumefaciens				– PCR Real Time PCR	
ncro rameale eudomonas syringae pv s.				– PCR Real Time PCR	
FITOPLASMI					
Fitoplasma della moria del pero Candidatus Phytoplasma pyri associato a Pear decline	PD				– PCR – Real Time PCR
AGENTI PATOGENI VIRUS-SIMILI					



Mal del caucciù del melo (<i>Apple rubbery wood</i>)	ARW				
= Plastomania del melo (<i>Apple flat limb</i>)	AFL	– <i>Prunus avium</i> Mazzard – <i>Prunus avium</i> F12/1	– <i>Malus pumila</i> – <i>L. Lambourne</i> – <i>Malus pumila</i> – <i>Gravensteiner</i>		
= Mela nana (<i>Apple chat fruit</i>)	ACF				
Maculatura gialla del cotogno (<i>Quince yellow blotch</i>)	QYB				
Corteccia ruvida (<i>Pear rough bark</i>)					
Fessurazione corticale (<i>Pear bark split</i>)	PRB		– <i>P. communis</i> A 20 – <i>Pyrus communis</i> – <i>B. Hardy</i>		
Necrosi corticale (<i>Pear bark necrosis</i>)	PBS	–	– <i>Pyrus communis</i> – <i>Doyenne du Comice</i>		
Caduta delle gemme (<i>Pear bud drop</i>)	PBN				
	PBD				

** Per l'accettazione di una pianta madre di Pre-Base devono essere eseguiti sia il test biomolecolare sia il saggio biologico.



PARTE B
MEZZI NECESSARI ALLA CONDUZIONE E ALLA PRODUZIONE *IN VIVO*
DEI MATERIALI DI CATEGORIA “PREBASE”

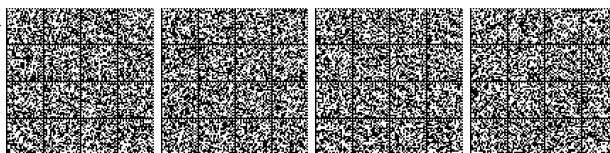
Strutture

La fase di Conservazione per la Premoltiplicazione deve essere effettuata in serre a rete a prova d’insetti (screen house). Le serre devono avere dimensioni tali da soddisfare lo sviluppo previsto in funzione del volume dei contenitori utilizzati e devono rispondere ai seguenti requisiti:

1. la pavimentazione deve garantire il completo isolamento tra i contenitori e il terreno o con il piano di calpestio che può essere realizzato:
 - con adeguato vespaio rifinito con brecciolino o altro materiale inerte che assicuri un efficiente drenaggio;
 - con battuto di cemento o altro materiale. In tal caso i contenitori per i semenzai e i bancali di ambientamento devono essere opportunamente distanziati dal piano di calpestio utilizzando appositi supporti di almeno 20 cm di altezza;
2. essere provviste di un vespaio perimetrale di almeno 80 cm di larghezza e di profondità superiore di almeno 20 cm rispetto al piano interno;
3. essere isolate dall’afflusso di acque superficiali, mediante un cordolo o altri manufatti che assicurino l’isolamento, dichiarate idonee dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio;
4. essere realizzate a tetto rigido, pareti e soffitto con una doppia rete con maglia 20/10 (20 fili/cm in ordito e 10 fili/cm in trama) e provviste di vestibolo con doppia rete e con doppia porta;
5. piante appartenenti a livelli qualitativi diversi possono essere allevate nella stessa screen house purché separate da doppia rete.

Allevamento e produzione

1. Il materiale di “Prebase” deve essere conservato e moltiplicato in screen house e deve essere allevato in contenitori di adeguato volume;
2. il terriccio o il substrato utilizzato deve essere sterilizzato ed esente da *Chondrostereum purpureum*, *Verticillium dahliae*, *V. albo-atrum*, *Armillariella mellea*, *Nectria galligena*, *Phytophthora cactorum* e *Pseudomonas syringae* pv *Syringae*; tale esenzione deve essere documentata;
3. le piante devono essere numerate progressivamente in modo stabile in sito al momento dell’introduzione;
4. i contenitori, i cassoni utilizzati per la radicazione, per l’ambientamento e per i semenzai devono essere sollevati di almeno 20 cm dal piano di calpestio;
5. prima dell’utilizzo i cassoni utilizzati per la radicazione, per l’ambientamento e per i semenzai devono essere trattati con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2% per almeno 20/30 minuti;
6. dopo 15 anni dall’immissione le piante madri devono essere rinnovate previa verifica di tutti i requisiti previsti per la registrazione della fonte primaria;
7. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all’1% di cloro attivo.



PARTE C

MEZZI NECESSARI ALLA CONDUZIONE E ALLA PRODUZIONE *IN VIVO*
DEI MATERIALI DI CATEGORIA “BASE”**SEZIONE I - Strutture****Pero, portinnesti e altre pomacee o loro ibridi**

La fase di Premoltiplicazione deve essere effettuata in serre a rete a prova d'insetto che rispondano ai requisiti e alle caratteristiche previste all'Allegato 2 del presente decreto.

Melo e cotogno

La fase di Premoltiplicazione avviene in serre a rete a prova di insetti. Può essere autorizzata la sua attuazione in campi di piante madri se questi rispondono ai seguenti requisiti:

1. essere ubicati in aree dichiarate idonee dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio, conformemente alla normativa fitosanitaria vigente, e comunque libere da piante ospiti di *Erwinia amylovora* per un raggio di 1.000 metri, in terreni privi di coltivazioni arboree da almeno 4 anni ed in aree non intensamente investite a frutteti di pomoidee;
2. essere realizzati su terreni che rispondano ai normali requisiti di idoneità agronomica e sanitaria ed esenti da *Chondrostereum purpureum*, *Verticillium dahliae*, *V. albo-atrum*, *Armillariella mellea*, *Nectria galligena*, *Phytophthora cactorum* e *Pseudomonas syringae* pv *syringae*; tale esenzione deve essere documentata;
3. essere protetti da reti antigrandine.

SEZIONE II - Allevamento e Produzione**Pero, portinnesti e altre pomacee o loro ibridi**

1. Il materiale di “base” deve essere conservato e moltiplicato in serre a rete a prova di insetto e deve essere allevato in contenitori di adeguato volume;
2. le piante madri di “base” possono essere allevate per un massimo di 20 anni dall'immissione in screen house, salvo diversa prescrizione del Servizio fitosanitario regionale competente per territorio;
3. il terriccio o substrato utilizzato per la conservazione e la moltiplicazione deve essere sterilizzato e esente da *Chondrostereum purpureum*, *Verticillium dahliae*, *V. albo-atrum*, *Armillariella mellea*, *Nectria galligena*, *Phytophthora cactorum* e *Pseudomonas syringae* pv *syringae*; tale esenzione deve essere documentata;
4. le piante devono essere numerate progressivamente in modo stabile in sito al momento dell'introduzione;
5. i contenitori, i cassoni utilizzati per la radicazione, per l'ambientamento e per i semenzai devono essere sollevati di almeno 20 cm dal piano di calpestio;
6. prima dell'utilizzo i cassoni utilizzati per la radicazione, per l'ambientamento e per i semenzai devono essere trattati con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2% per almeno 20-30 minuti;
7. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.

Melo e cotogno

Il materiale di “base” deve essere conservato e moltiplicato in serre a rete a prova di insetto secondo le modalità previste all'allegato 2 del presente decreto.

Può essere autorizzata la sua attuazione in campi di piante madri se questi rispondono ai seguenti requisiti:

1. essere ubicati in aree dichiarate idonee dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio, conformemente alla normativa fitosanitaria vigente, e comunque libere da piante ospiti di *Erwinia amylovora* per un raggio di 1.000 metri, in terreni privi di coltivazioni arboree da almeno 4 anni ed in aree non intensamente investite a frutteti di pomoidee;



2. essere realizzati su terreni che rispondano ai normali requisiti di idoneità agronomica e sanitaria ed esenti da *Chondrostereum purpureum*, *Verticillium dahliae*, *V. albo-atrum*, *Armillariella mellea*, *Nectria galligena*, *Phytophthora cactorum* e *Pseudomonas syringae* pv *syringae*; tale esenzione deve essere documentata;
3. le piante devono essere innestate su portinnesti nanizzanti;
4. il numero delle piante madri di base non deve essere inferiore a 5 piante per varietà o clone;
5. le singole piante, portamarze (PMM) o portaseme (PMS) devono essere numerate stabilmente in sito, all'atto dell'impianto, in modo progressivo;
6. i campi devono essere protetti da reti antigrandine;
7. la durata massima delle piante è di 10 anni dall'impianto.

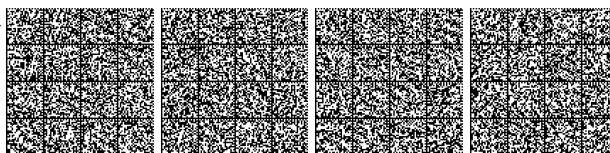
Ceppaia

I portinnesti di categoria "base" sono ottenuti per moltiplicazione agamica per talea del materiale di categoria "prebase" proveniente dalla conservazione, o dalla fonte primaria previa autorizzazione del Comitato nazionale per la certificazione (CNC), secondo le seguenti modalità:

1. possono essere attuate fino a due fasi di premoltiplicazione;
2. per realizzare la prima fase di premoltiplicazione (CP1) si utilizzano talee innestate a tavolo su portinnesti franchi, o talee autoradicate, piantate in contenitori del tipo "Bins" o simili come ceppaia, alle stesse condizioni di cui all'allegato 2; successivamente le piante così ottenute sono allevate
 - melo e cotogno in pieno campo per formare la prima ceppaia "incrementale" (CP1) nelle stesse condizioni previste per le varietà,
 - mentre per il pero il CP1 deve essere allevato in screen house, in contenitori del tipo "Bins" o simili come ceppaia alle stesse condizioni di cui all'allegato 2.
3. dalla prima premoltiplicazione (CP1) vengono prodotte talee radicate per formare la ceppaia di categoria "base" (CP2) in pieno campo secondo i requisiti previsti per le varietà di base;
4. in pieno campo le parcelle devono essere complete e distinte per specie, varietà e clone; non sono ammesse diverse specie, varietà o cloni sulla stessa fila.

La fase di produzione dei portinnesti da ceppaia avviene in pieno campo in terreni che rispondano ai seguenti requisiti:

1. essere ubicati in aree dichiarate idonee, conformemente alla normativa fitosanitaria vigente, dal Servizio fitosanitario Regionale competente per territorio, e comunque libere da piante ospiti di *Erwinia amylovora* per un raggio di 1.000 metri ed in aree non intensamente investite a frutteti;
2. essere realizzati su terreni che rispondano ai normali requisiti di idoneità agronomica e sanitaria ed esenti da *Chondrostereum purpureum*, *Verticillium dahliae*, *V. albo-atrum*, *Armillariella mellea*, *Nectria galligena*, *Phytophthora cactorum* e *Pseudomonas syringae* pv *syringae*; tale esenzione deve essere documentata;
3. i campi devono essere protetti da reti antigrandine;
4. la durata massima delle piante è di 10 anni dall'impianto.



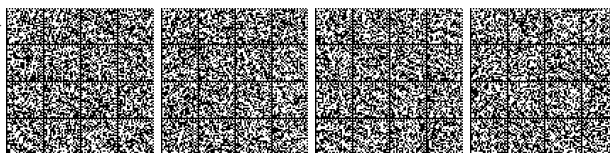
PARTE D

MEZZI NECESSARI ALLA CONDUZIONE E ALLA PRODUZIONE *IN VIVO*
DEI MATERIALI DI MOLTIPLICAZIONE DI CATEGORIA “CERTIFICATO”**SEZIONE I - Campi di Pianta Madri Portamarze (PMM)****Devono rispondere ai seguenti requisiti:**

1. essere ubicati in aree dichiarate idonee, conformemente alla normativa fitosanitaria vigente, dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio, e comunque libere da piante ospiti di *Erwinia amylovora* per un raggio di 500 metri ed in aree non intensamente investite a frutteti di pomoidee fatte salve prescrizioni più restrittive del Servizio fitosanitario medesimo, acquisito il parere del Comitato nazionale per la certificazione (CNC);
2. essere realizzati su terreni che rispondano ai normali requisiti di idoneità agronomica e sanitaria;
3. in terreni privi di coltivazioni arboree da almeno 4 anni;
4. devono essere protetti da rete antigrandine;
5. le cultivar o mutanti geneticamente instabili devono essere innestati solo su portinnesti nanizzanti di categoria base o superiore;
6. la durata massima delle piante madri di varietà geneticamente “instabili” è di 10 anni dall’impianto;
7. la durata massima delle piante madri di varietà geneticamente “stabili” è di 15 anni dall’impianto;
8. le singole piante devono essere numerate stabilmente, all’atto dell’impianto, in modo progressivo;
9. le file devono essere complete e distinte per accessione, qualora su una stessa fila venissero allevate accessioni diverse, è obbligatoria la loro separazione con interspazio doppio; della disposizione delle piante deve essere prodotta apposita mappa;
10. gli impianti devono essere attivamente difesi al fine della protezione dallo sviluppo di patogeni, parassiti ed infestanti;
11. tutte le operazioni devono essere riportate sull’apposito registro di conduzione;
12. isolati dall’afflusso di acque superficiali;
13. le acque di irrigazione devono risultare o essere rese libere da organismi nocivi;
14. il sesto d’impianto deve essere tale da permettere l’esecuzione delle normali pratiche colturali e relativi controlli.

SEZIONE II - Campi di Pianta Madri Portasemi (PMS) e ceppaia**Devono rispondere ai seguenti requisiti:**

1. essere ubicati in aree dichiarate idonee, conformemente alla normativa fitosanitaria vigente, dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio, e comunque libere da piante ospiti di *Erwinia amylovora* per un raggio di 500 metri ed in aree non intensamente investite a frutteti di pomoidee fatte salve prescrizioni più restrittive del Servizio fitosanitario medesimo, acquisito il parere del Comitato nazionale per la certificazione (CNC);
2. essere realizzati su terreni che non abbiano ospitato coltivazioni arboree da almeno 4 anni e che rispondano ai normali requisiti di idoneità agronomica e sanitaria ed esenti da *Chondrostereum purpureum*, *Verticillium dahliae*, *V. albo-atrum*, *Armillariella mellea*, *Nectria galligena*, *Phytophthora cactorum* e *Pseudomonas syringae* pv *syringae* e dai nematodi *Pratylenchus vulnus* *P. penetrans*, *Meloidogyne hapla* e *M. incognita*; tale esenzione deve essere documentata;
3. le parcelle di piante madri portaseme (PMS) devono essere complete e distinte per specie, varietà e clone e non sono ammesse in alcun caso specie, varietà o cloni diversi sulla stessa fila; adeguata planimetria del campo deve essere fornita annualmente al Servizio fitosanitario regionale competente per territorio e mantenuta aggiornata;
4. la durata massima dei campi di piante madri portaseme (PMS) è di 18 anni dall’impianto;
5. la durata massima delle ceppaie è di 15 anni dall’impianto;
6. gli impianti devono essere attivamente difesi al fine della protezione dallo sviluppo di patogeni, parassiti ed infestanti.

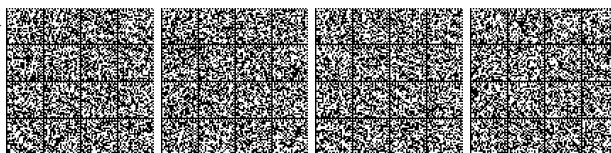


Condizioni diverse da quelle sopracitate potranno essere preventivamente autorizzate dal Comitato nazionale per la certificazione (CNC) sentito il Servizio fitosanitario regionale competente per territorio, su specifica richiesta del responsabile del Centro di moltiplicazione (CM).

SEZIONE III - Vivaio

L'allevamento e la produzione del materiale certificato in vivaio, sono effettuate secondo le seguenti modalità:

1. essere ubicati in aree dichiarate idonee, conformemente alla normativa fitosanitaria vigente, dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio, e comunque libere da frutteti di pomoidee per un raggio di 500 metri fatte salve prescrizioni più restrittive del Servizio fitosanitario medesimo, acquisito il parere del Comitato nazionale per la certificazione (CNC);
2. essere realizzati su terreni che non abbiano ospitato coltivazioni arboree da almeno 2 anni e che rispondano ai normali requisiti di idoneità agronomica e sanitaria ed esenti da *Chondrostereum purpureum*, *Verticillium dahliae*, *V. albo-atrum*, *Armillariella mellea*, *Nectria galligena*, *Phytophthora cactorum* e *Pseudomonas syringae* pv *syringae* e dai nematodi *Pratylenchus vulnus* *P. penetrans*, *Meloidogyne hapla* e *M. incognita*; tale esenzione deve essere documentata;
3. l'area destinata all'allevamento in contenitore deve essere isolata dall'afflusso di acque superficiali e contemplare una fascia di bordo, tenuta libera da vegetazione, di almeno 2 m;
4. gli impianti devono essere attivamente difesi al fine della protezione dallo sviluppo di patogeni, parassiti ed infestanti;
5. le piante devono essere suddivise in lotti omogenei, ben individuabili, riportati su mappa;
6. le parcelle devono essere omogenee, bene individuabili e separate da altro materiale vivaistico di categoria "CAC" con uno spazio di almeno 2 m e costituite da file complete e distinte per specie, varietà e clone; possono essere ammesse su una stessa fila diverse varietà o cloni, a condizioni che siano separate da un interspazio non inferiore a m 1 e chiaramente evidenziato;
7. il ciclo produttivo delle piante da certificare non deve superare i 3 anni dalla messa a dimora;
8. il terreno deve essere isolato dall'afflusso delle acque superficiali e sub-superficiali;
9. le acque di irrigazione devono risultare o essere rese libere da organismi nocivi.
10. le strutture per la radicazione e l'ambientamento, devono essere isolate dall'afflusso delle acque superficiali e sub-superficiali e non devono essere a diretto contatto con il suolo ma sollevati di almeno 10 cm;
11. prima dell'utilizzo il cassone deve essere trattato con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2%;



PARTE E

MEZZI NECESSARI PER LA PRODUZIONE *IN VITRO* DI MATERIALE
DI MOLTIPLICAZIONE CATEGORIA “PREBASE”, “BASE” E “CERTIFICATO”

DEL PERO E RELATIVI PORTINNESTI

SEZIONE I - Produzione di materiale *in vitro* categoria “Prebase” e “Base”

1. La premoltiplicazione *in vitro* può essere effettuata, oltre che presso il Centro di premoltiplicazione (CP) stesso, anche presso uno o più laboratori di micropropagazione riconosciuti idonei dal Servizio fitosanitario regionale, attraverso la stipula di specifiche convenzioni tra Centro di premoltiplicazione e laboratorio. In questo caso, per ogni accessione, dovrà pervenire al Servizio fitosanitario medesimo una specifica richiesta.
2. L'ambientamento del materiale proveniente dal *vitro* può essere effettuato, oltre che presso il Centro di premoltiplicazione (CP) stesso, anche presso una o più strutture per l'ambientamento riconosciute idonee dal Servizio fitosanitario regionale, attraverso la stipula di apposite convenzioni tra Centro di premoltiplicazione e struttura di ambientamento.
3. Il materiale di categoria “base” deve essere tenuto separato dal materiale di propagazione di qualsiasi altra categoria per mezzo di separatori fisici che ne assicurino l'isolamento a fini fitosanitari (serre, reti antiafide, ecc.).
4. Particolare attenzione dovrà essere rivolta al substrato su cui eseguire l'ambientamento che non dovrà possedere alcun patogeno, quindi sarà necessario utilizzare torbe controllate e di sicura provenienza, oppure substrati sterilizzati con sistemi fisici o chimici.
5. I prelievi iniziali degli espianti per la micropropagazione (moltiplicazione *in vitro* attraverso gemme ascellari) devono essere effettuati solo su individui coltivati presso i Centri di Conservazione per la Premoltiplicazione (CCP).
6. la fase successiva può prevedere un periodo di stabilizzazione *in vitro* del materiale non superiore ai 3 mesi, seguito da un numero di subcolture non superiore a 8.
7. Il rinnovo del materiale in premoltiplicazione deve avvenire entro 2 anni dall'espianto iniziale, a prescindere dal numero delle subcolture raggiunte.

SEZIONE II - Produzione di materiale categoria “Certificato”

Il ciclo di moltiplicazione deve iniziare con materiale di “prebase” o di “base” proveniente dalla premoltiplicazione e può svilupparsi in un ciclo massimo complessivo (premoltiplicazione + moltiplicazione) di 12 subcolture.

In caso di necessità, al fine di costituire una cospicua quantità di materiale di partenza da moltiplicare, su specifica richiesta al Comitato nazionale per la certificazione (CNC) è consentita una ulteriore successione di moltiplicazioni di 8 subcolture, per un totale massimo complessivo (dalla stabilizzazione alla radicazione) di 20 trapianti.

Il rinnovo del materiale in moltiplicazione deve essere operato comunque entro 2 anni dall'inizio della fase stessa di moltiplicazione, a prescindere dal numero delle subcolture raggiunte.

SEZIONE III - Norme di coltivazione

Non è ammessa la micropropagazione di cloni chimerici per l'elevato rischio di non corrispondenza delle piante micropropagate al fenotipo di partenza.



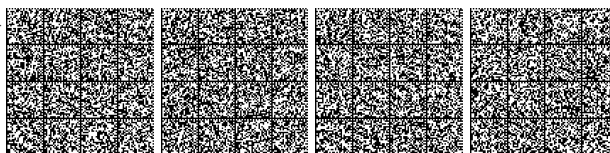
Durante tutte le fasi della coltura *in vitro* (moltiplicazione, allungamento e radicazione) i laboratori devono adottare le seguenti precauzioni:

1. l'espianto iniziale non dovrà essere troppo piccolo, cioè di spessore non inferiore ai 0,5 mm;
2. i substrati di coltura utilizzati in tutte le fasi della micropropagazione (Prelievo, stabilizzazione, moltiplicazione) non potranno in ogni caso avere una concentrazione di citochinine complessivamente superiore ad 1 mg/litro;
3. nella composizione del substrato non è ammesso l'uso di TDZ (Thidiazuron) e di altre sostanze con possibile azione mutagenica;
4. eliminazione di ogni coltura che presenti proliferazione di tessuto indifferenziato (callo);
5. eliminazione della parte basale del ciuffo di germogli al momento del trapianto ove è più frequente la proliferazione di tessuto indifferenziato;
6. utilizzazione esclusiva di germogli originati da gemme ascellari;
7. eliminazione delle colture vitrescenti e/o con altre anomalie morfofisiologiche (fasciazioni in particolare).

I vasi di coltura del materiale di premoltiplicazione e di moltiplicazione devono essere mantenuti in un settore ben identificabile e distinto del laboratorio e contrassegnati singolarmente, in modo da essere agevolmente identificabili, tramite etichette numerate, contenenti le informazioni necessarie ad identificare il contenuto (varietà, clone, data ingresso del clone, numero di subcoltura, data movimento). Le lavorazioni devono essere annotate giornalmente su di un registro di prima nota, e settimanalmente, su apposito registro di carico e scarico, con pagine non asportabili, numerate progressivamente e vidimate dal Servizio fitosanitario regionale. Detti registri devono essere conservati presso il laboratorio; eventuali correzioni dovranno essere effettuate con un tratto di penna che consenta la lettura di quanto scritto in precedenza.

L'ambientamento del materiale di "base" e "certificato" deve essere effettuato in serre o tunnel destinati esclusivamente a questo scopo, non è quindi ammesso l'ambientamento di materiale non certificato negli stessi ambienti.

Al termine dell'ambientamento, previa autorizzazione del Servizio fitosanitario regionale, deve essere apposta l'etichetta di garanzia genetico-sanitaria sulla confezione alveolare da n. 60 piantine; qualora, per motivi tecnici, le piantine non possano essere trasportate nei contenitori alveolari, la stessa etichetta può essere utilizzata per il confezionamento di mazzi da 60 piantine; possono inoltre essere utilizzate etichette per portinnesti in mazzi da 25 e multipli e comunque entro le 100 piante.



PARTE F

CONTROLLI FITOSANITARI

SEZIONE I –materiale categoria “Prebase” e “Base”**Virus, viroidi, fitoplasmi, agenti virus simili e batteri**

Controlli visivi: da compiersi annualmente su tutte le piante presenti, in concomitanza dei periodi di maggiore espressione sintomatica;

Controlli di laboratorio:

- Tutte le piante in conservazione per la premoltiplicazione devono essere controllate entro il terzo anno dall'introduzione secondo le modalità indicate nella Tabella 1 per il melo e nella Tabella 2 per il pero e cotogno. Tali controlli devono essere ripetuti entro l'ottavo anno dall'introduzione.
- Tutte le piante in premoltiplicazione devono essere controllate entro il terzo anno dall'impianto secondo le modalità indicate nella Tabella 1 del presente allegato per il melo e nella Tabella 2 del presente allegato per il pero e il cotogno.
- Nel caso che dai controlli eseguiti si riscontri che il materiale esaminato non sia idoneo (accertato e verificato) il responsabile del centro è tenuto a segnalarlo al Servizio fitosanitario regionale ed a rimuoverlo, secondo le modalità stabilite dal Servizio fitosanitario medesimo.

SEZIONE II –materiale categoria “Certificato”**materiale nei campi di piante madri per marze e per portinnesti.****Virus, viroidi, fitoplasmi, agenti virus simili e batteri**

Controlli visivi: da compiersi annualmente su tutte le piante madri per marze presenti, in concomitanza dei periodi di maggiore espressione sintomatica.

Nel caso che dai controlli eseguiti si riscontri che il materiale esaminato non sia idoneo (accertato e verificato) il responsabile del centro è tenuto a segnalarlo al Servizio fitosanitario regionale ed a rimuoverlo, secondo le modalità stabilite dal Servizio fitosanitario medesimo.

materiale nei vivai**Virus, viroidi, fitoplasmi, agenti virus simili e batteri**

Controlli visivi: da compiersi annualmente su tutte le piante madri per marze presenti, in concomitanza dei periodi di maggiore espressione sintomatica.

Al vivaista competono le verifiche e gli interventi per una corretta gestione agronomica e fitosanitaria.

Nel caso che dai controlli eseguiti si riscontri che il materiale esaminato non sia idoneo (accertato e verificato) il responsabile del vivaio è tenuto a segnalarlo al Servizio fitosanitario regionale ed a rimuoverlo, secondo le modalità stabilite dal Servizio fitosanitario medesimo.

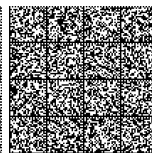
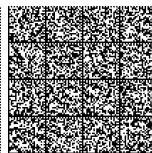
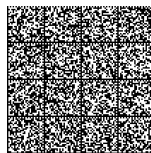
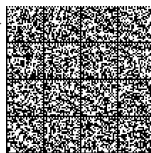


Tabella 1 MELO Procedure per la verifica dello stato sanitario delle piante madri portaseme e portamarze di categoria "Prebase", Base e Certificato

Organismo nocivo/Malattia	Osservazioni visive		Saggi biologici *		Saggi di laboratorio sierologico / molecolare	
	Epoca	Periodicità	Indicatore utilizzabile	Epoca e tipo di campione	Epoca, tipo di campione e Test	Periodicità
VIRUS						
ApMV	Primavera fino a temperature di 25° C	Annuale	<i>Malus pumila</i> Charden <i>Malus pumila</i> Delicious <i>Malus pumila</i> Lord Lambourne	Innesto: agosto o alla ripresa vegetativa con marze lignificate	Fine inverno / primavera marze / foglie giovani ELISA o RT-PCR o Real time PCR	Entro il terzo anno dall'introduzione
ASPV	Maggio – settembre	Annuale	<i>Pyronia veitchii</i> <i>Malus pumila</i> Spy 227 <i>Malus pumila</i> Virginia Crab <i>Malus pumila</i> Kola <i>Malus pumila</i> Radiant	Innesto: agosto o alla ripresa vegetativa con marze lignificate	Fine inverno / primavera marze / foglie giovani RT-PCR, Real time PCR	Entro il terzo anno dall'introduzione
ACLSV	Maggio – settembre Estate	Annuale	<i>Malus sylvestris</i> R12740 7A <i>Cydonia oblonga</i> C7/1 <i>Cydonia oblonga</i> Pigwa <i>Malus platycarpa</i>	Innesto: agosto o alla ripresa vegetativa con marze lignificate	Fine inverno / primavera marze / foglie giovani ELISA o RT-PCR o , Real time PCR	Entro il terzo anno dall'introduzione
ASGV	Maggio – settembre	Annuale	<i>Malus pumila</i> Virginia Crab <i>Malus micromalus</i>	Innesto: agosto o alla ripresa vegetativa con marze lignificate	Fine inverno / primavera marze / foglie giovani ELISA o RT-PCR o , Real time	Entro il terzo anno dall'introduzione



Organismo nocivo/Malattia	Osservazioni visive		Saggi biologici *		Saggi di laboratorio sierologico / molecolare	
			GMAL273 <i>Pyronia veitchii</i>		PCR	zione
VIROIDI						
ADSVd ASSVd	Fine estate e primavera	Annuale	<i>Malus communis</i> Stark's Earliest	Innesto: agosto o alla ripresa vegetativa con marze lignificate Per ASSVd osservare 3 fruttificazioni	Durante periodo vegetativo marze / foglie / frutti , Real time PCR	Entro il terzo anno dall'introduzione
			<i>Malus communis</i> Sugar Crab			
			<i>Malus communis</i> Delicious rosse			
			<i>Malus communis</i> Starkrimson			
FITOPLASMI						
AP	Ripresa vegetativa, schiusura gemme, Estate, autunno colorazione foglie	Annuale	<i>Malus communis</i> Charden	Innesto: estate – autunno con marze lignificate, primavera con radici	Estate /autunno marze / foglie PCR , Real time PCR	Entro il terzo anno dall'introduzione
			<i>Malus com.</i> Delicious			
			<i>Malus com.</i> Lord Lambourne			
BATTERI						
<i>Erwinia amylovora</i>		Annuale				
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	All'estirpazione					
<i>P. syringae</i> pv <i>syringae</i>		Annuale				



Organismo nocivo/Malattia	Osservazioni visive	Saggi biologici *		Saggi di laboratorio sierologico / molecolare	
AGENTI VIRUS- SIMILI					
ARW AFL ACF	Primavera – estate	Prunus avium F12/1	Mazard	Innesto: da agosto ad aprile con marze significate	
	Annuale	Malus com Lambourne	Lord		
		Malus com Gravensteiner Cydonia oblonga C 7/1			
ARRV, GCV, ARSk, ASC, ApRWa e ApRS	Estate, fino alla maturazione dei frutti	Annuale	non previsti	non previsti	

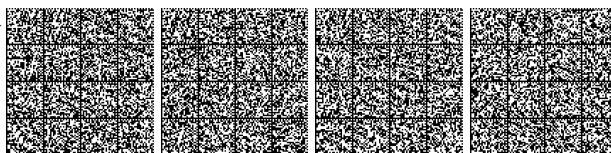
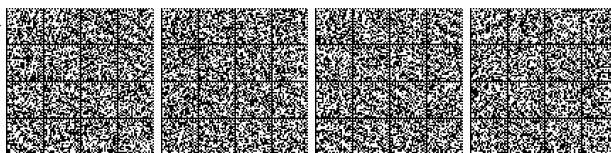
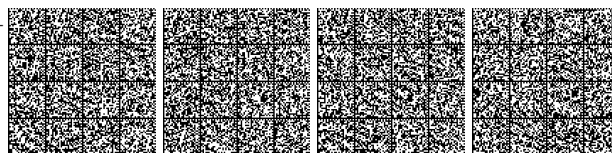


Tabella 2 PERO e COTOGNO: Procedure per la verifica dello stato sanitario delle piante madri portase e portamarze di categoria "Prebase, Base e Certificato"

Organismo nocivo/Malattia	Osservazioni visive		Saggi biologici *		Saggi di laboratorio sierologico/molecolare	
	Epoca	Periodicità	Indicatore utilizzabile	Epoca e tipo di campione	Test, Epoca e tipo di campione	Periodicità
VIRUS						
ASPV	Maggio – luglio	Annuale	<i>Pyronia veitchii</i>	Innesto: agosto o alla ripresa vegetativa con marze lignificate	Fine inverno / primavera marze / foglie giovani RT-PCR, Real Time PCR	Entro il terzo anno dall'introduzione
			<i>Malus pumila</i> Spy 227 <i>Malus pumila</i> Virginia crab <i>Pyrus communis</i> Noveau Poiteau, <i>Pyrus communis</i> Julesd' Airolles, <i>Pyrus communis</i> A 20			
ACLSV	Maggio – luglio	Annuale	<i>Malus sylvestris</i> R12740 7A <i>Cydonia oblonga</i> C7/1 <i>Cydonia oblonga</i> Pigwa <i>Malus platycarpa</i> <i>Pyronia veitchii</i> <i>Pyrus communis</i> Noveau Poiteau	Innesto: agosto o alla ripresa vegetativa con marze lignificate	Fine inverno / primavera Marze / foglie giovani Elisa o RT-PCR Real Time PCR	Entro il terzo anno dall'introduzione

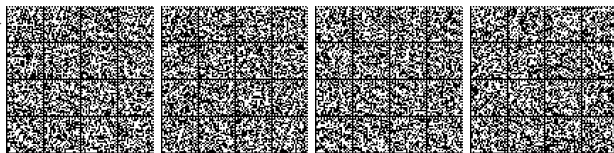


Organismo nocivo/Malattia	Osservazioni visive	Saggi biologici *	Saggi di laboratorio sierologico/molecolare
		<i>Pyrus communis</i> A 20, <i>Pyrus communis</i> Beurre Hardy	
ASGV	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>Malus pumila</i> Virginia Crab <i>Malus micromalus</i> GMAL273 <i>Pyronia veitchii</i>	Fine inverno / primavera Marze / foglie giovani Elisa o RT-PCR o Real Time PCR Entro il terzo anno dall'introduzione
VIROIDI			
PBCVd	Fine estate primavera	<i>Pyrus communis</i> Fieud 37 <i>Pyrus communis</i> A 20	Durante periodo vegetativo Marze / foglie giovani RT-PCR Real Time PCR Entro il terzo anno dall'introduzione
ASSVd	Fine estate primavera	<i>Malus pumila</i> Stark's Earliest <i>Malus pumila</i> Sugar Crab <i>Malus pumila</i> Delicious rosse <i>Malus pumila</i> Starkrimson	Durante periodo vegetativo Marze / foglie giovani RT-PCR Real Time PCR Entro il terzo anno dall'introduzione
FITOPLASMI			
PD	Fine estate autunno (su varietà e piante indicatrici)		Durante periodo vegetativo Rami significati, piccioli e Entro il terzo anno dall'introduzione



Organismo nocivo/Malattia	Osservazioni visive	Saggi biologici *	Saggi di laboratorio sierologico/molecolare	
				nervature fogliari PCR o Real Time PCR
BATTERI				
<i>Xylella fastidiosa</i>		Annuale		ELISA, PCR, Real Time PCR
<i>Erwinia amylovora</i>		Annuale		
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	All'estirpazione			
<i>P. syringae pv syringae</i>		Annuale		
AGENTI VIRUS-SIMILI				
ARW		<i>Prunus avium</i> Mazard F12/1		
AFL	Primavera – estate	Annuale	Innesto: agosto o alla ripresa vegetativa con marze lignificate	
QYB		<i>Malus com</i> L. Lambourne <i>Malus com.</i> Gravensteiner <i>Cydonia oblonga</i> C 7/1		
PRB, PBS, PBN e PBD	Primavera – estate	Annuale	Innesto: agosto o alla ripresa vegetativa con marze lignificate	

* da eseguire su tutte le piante in conservazione (cat. Prebase) entro il terzo anno dall'introduzione e, limitatamente alla premoltiplicazione (cat. Base), almeno 1 volta entro 3 anni, per tutte le piante da cui è stato effettuato il prelievo di materiale.



PARTE G

CONTROLLI GENETICI

SEZIONE I – Sul materiale in conservazione per la premoltiplicazione (CCP)

I controlli feno-pomologici nella fase di conservazione sono effettuati durante le fasi principali del ciclo vegetativo.

Nel caso che dai controlli eseguiti si riscontri che il materiale esaminato non sia idoneo, il responsabile del Centro è tenuto a segnalarlo al Servizio fitosanitario regionale ed a rimuoverlo secondo le modalità stabilite dal Servizio fitosanitario medesimo.

La certificazione della rispondenza varietale per le cultivar di pomoidee può essere rilasciata solo dopo aver osservato almeno una fruttificazione sufficiente a permettere la piena rispondenza al fenotipo del materiale in osservazione.

Al fine di verificare tale rispondenza varietale, di ogni pianta madre in conservazione, dovranno essere coltivate in pieno campo, almeno 4 piante di monitoraggio ottenute dalla propagazione agamica della pianta conservata, mediante innesto su portinnesti di categoria “certificato”:

- nanizzanti per il melo
- della specie *Cydonia* con relativo innesto intermedio sempre di categoria “certificato” per il pero.

Qualora la premoltiplicazione si svolga direttamente in pieno campo, con piante madri fruttificanti non si rende necessario il monitoraggio delle piante in conservazione.

La certificazione di rispondenza varietale delle cultivar portasemi va fatta al momento della raccolta dei frutti, ed inoltre dopo le osservazioni per un intero ciclo vegetativo in vivaio di almeno 200 semenzali ottenuti dal seme raccolto dagli alberi della cultivar portaseme.

La certificazione di rispondenza varietale per i portinnesti clonali può essere rilasciata dopo le osservazioni per almeno 1 ciclo vegetativo completo, sia in ceppaia sia sulla pianta madre per la produzione di talee (verdi o lignificati) sufficiente per verificare la rispondenza al fenotipo. Per tale certificazione può anche essere utilizzata la tecnica del finger-printing dove attuabile.

SEZIONE II – Sul materiale in premoltiplicazione (CP)

I controlli feno-pomologici nella fase di premoltiplicazione sono effettuati durante le fasi principali del ciclo vegetativo.

La certificazione di rispondenza varietale o clonale potrà essere rilasciata solo dopo aver osservato almeno una fruttificazione sufficiente a permettere la piena rispondenza del materiale in osservazione al fenotipo:

- Premoltiplicazione in pieno campo: per le varietà geneticamente stabili il prelevamento di materiale di base riguarda l'intera pianta madre, mentre per le varietà geneticamente instabili il prelievo è limitato solo alle marze presenti su legno fruttificante con frutti rispondenti. Il controllo pomologico in questa fase deve essere effettuato ogni anno per ogni pianta presente nel Centro di premoltiplicazione (CP) prima del prelievo del materiale di propagazione nelle cultivar estivi/autunnali e durante l'anno antecedente al taglio per le cultivar invernali.
- Premoltiplicazione in screen-house: osservazione di piante di monitoraggio come per la conservazione. Il controllo pomologico in questa fase dovrà comunque essere effettuato per almeno 2 fruttificazioni.



La certificazione di rispondenza varietale delle cultivar portasemi va fatta al momento della raccolta dei frutti, ed inoltre dopo le osservazioni per un intero ciclo vegetativo in vivaio di almeno 200 semenzali ottenuti dal seme raccolto dagli alberi della cultivar portaseme.

La certificazione di rispondenza varietale per i portinnesti clonali è rilasciata dopo le osservazioni di almeno 1 ciclo vegetativo completo, in ceppaia ed in vivaio, sufficiente per verificare la rispondenza al fenotipo.

Nel caso che dai controlli eseguiti si riscontri che il materiale esaminato non corrisponde all'identità pomologica, cioè non sia idoneo, il vivaista è tenuto a segnalarlo al Servizio fitosanitario regionale ed a rimuoverlo secondo le modalità stabilite dal Servizio fitosanitario medesimo.

SEZIONE III – Sul materiale nei campi di piante madri (CM) per marze e per portinnesti

La certificazione di rispondenza varietale potrà essere rilasciata solo dopo aver osservato ogni anno il fenotipo della pianta madre.

Per le cultivar geneticamente instabili tale controllo del fenotipo deve essere integrato con il controllo dei frutti ripetuto ogni anno per ogni pianta presente nel Campo di piante madri (CM) prima del prelievo del materiale di propagazione nelle cultivar estivi/autunnali e durante l'anno antecedente al taglio per le cultivar invernali.

La certificazione di rispondenza varietale per i portinnesti clonali o moltiplicati per talea può essere rilasciata dopo le osservazioni per almeno 1 ciclo vegetativo completo, in ceppaia o sulla pianta madre, sufficiente per verificare la rispondenza al fenotipo. Per tale certificazione può anche essere utilizzata la tecnica del finger-printing dove attuabile.

La certificazione varietale per i portinnesti da seme e relativa alla cultivar portaseme può venire rilasciata seguendo quanto indicato per le cultivar di fruttiferi, ed inoltre dopo le osservazioni per un intero ciclo vegetativo in vivaio di almeno 200 semenzali portinnesto ottenuti dal seme raccolto dagli alberi della cultivar portaseme.

Nel caso che dai controlli eseguiti si riscontri che il materiale esaminato non corrisponde all'identità pomologica, cioè non sia idoneo, il vivaista è tenuto a segnalarlo al Servizio fitosanitario regionale ed a rimuoverlo secondo le modalità stabilite dal Servizio fitosanitario medesimo.

SEZIONE IV – Sul materiale nei vivai.

I controlli feno-pomologici nella fase di vivaio sono effettuati durante le fasi principali del ciclo vegetativo in corrispondenza dei controlli sanitari.

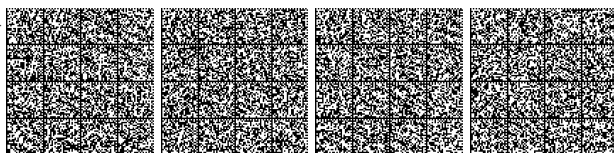


CAPO V - PRUNOIDEE

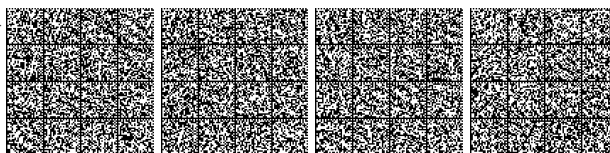
PARTE A

MALATTIE E ORGANISMI NOCIVI DI CUI DEVE ESSERE ACCERTATA L'ASSENZA NELLE PIANTE
MADRI DI CATEGORIA "PRE-BASE" E DEL MATERIALE DI CATEGORIA "PREBASE", "BASE" E
"CERTIFICATO" E RELATIVI SAGGI

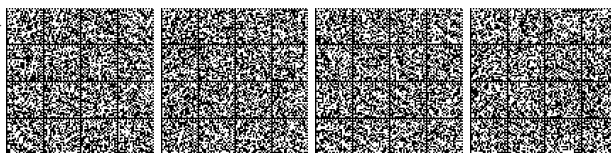
B.1 Albicocco					
Agente eziologico / Malattia	Acronimo	Saggi biologici (indicatori arborei)		Test	Test Biomolecolari
		Serra	Campo	Microscopi ci / Sierologici	
VIRUS					
Virus del mosaico del melo <i>Apple mosaic virus</i>	ApMV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>P. armeniaca</i> Priana	– ELISA	– RT-PCR – Real time PCR
Virus della maculatura clorotica fogliare del melo <i>Apple chlorotic leaf spot virus</i>	ACLSV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>P. armeniaca</i> Priana	– ELISA	– RT-PCR – Real time PCR
Virus della maculatura anulare necrotica dei <i>Prunus</i> <i>Prunus necrotic ring spot virus</i>	PNRSV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	– ELISA	– RT-PCR – Real time PCR
Virus del nanismo del susino <i>Prune dwarf virus</i>	PDV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	– ELISA	– RT-PCR – Real time PCR
Virus associato al la butteratura e necrosi della corteccia del susino <i>Plum bark necrosis stem pitting – associated virus</i>	PBNSPaV			LISA	– RT-PCR –
Virus latente dell'albicocco <i>Apricot latent virus</i>	ALV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>P. armeniaca</i> Priana		– RT-PCR –
Virus della vaiolatura delle drupacee o Sharka <i>Plum pox virus</i>	PPV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>P. armeniaca</i> Priana	– ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
VIROIDI					
Viroide del nanismo del luppolo <i>Hop stunt viroid</i>	HSVd				RT-PCR Real time PCR



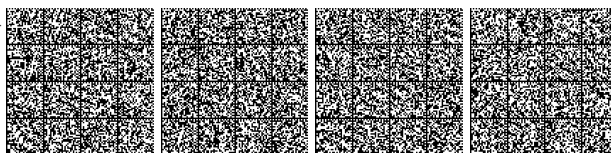
FITOPLASMI					
Fitoplasma del giallume europeo delle drupacee - (European stone fruit yellow phytoplasma) <i>Candidatus phytoplasma prunorum</i>	ESFYP	– <i>Prunus persicae</i> GF305	– <i>P. armeniaca</i> Priana		PCR Real time PCR
FUNGHI					
<i>Verticillium dahliae</i> <i>Chondrostereum purpureum</i> <i>Armillaria mellea</i> <i>Rosellinia necatrix</i>			ISOLAMENTO		
BATTERI					
		Saggi microbiologici	Saggi sierologici	Saggi biomolecolari	
Tumore batterico <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	A.t.			PCR, Real Time PCR	
<i>Xylella fastidiosa</i>	Xf		ELISA	PCR, Real Time PCR	



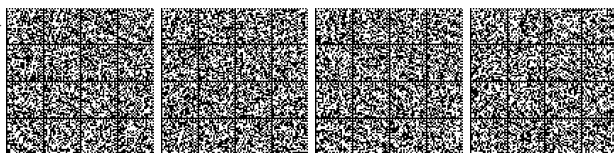
Ciliegio					
Agente eziologico / Malattia	Acronimo	indicatori arborei saggi biologici		Test	Test Biomolecolari
		Serra	Campo	Microscopi ci/ Sierologici	
VIRUS					
Virus del mosaico del melo <i>Apple mosaic virus</i>	ApMV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>P. persicae</i> GF305	ELISA	– RT-PCR – Real time PCR
Virus della maculatura clorotica fogliare del melo <i>Apple chlorotic leaf spot virus</i>	ACLSV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>P. persicae</i> GF305	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della maculatura anulare necrotica dei <i>Prunus</i> <i>Prunus necrotic ring spot virus</i>	PNRSV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus del nanismo del susino <i>Prune dwarf virus</i>	PDV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della vaiolatura delle drupacee o Sharka <i>Plum pox virus</i>	PPV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>P. armeniaca</i> Priana	– <i>P. persicae</i> GF305	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus del mosaico dell’Arabis <i>Arabis mosaic virus</i>	ArMV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>Prunus avium</i> Bing – <i>P. persicae</i> GF305	ELISA	– RT-PCR –
Virus dell’accartocciamento fogliare del ciliegio <i>Cherry leaf roll virus</i>	CLRV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>Prunus avium</i> Bing – <i>P. persicae</i> GF305	ELISA	– RT-PCR –
Virus della foglia rasposa del ciliegio <i>Cherry rasp leaf virus</i>	CRLV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>Prunus avium</i> Bing		– RT-PCR –
Virus della maculatura anulare del lampone <i>Raspberry ringspot virus</i>	RRSV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>Prunus avium</i> Bing	ELISA	– RT-PCR
Virus della maculatura anulare latente della fragola <i>Strawberry latent ringspot virus</i>	SLRSV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>Prunus avium</i> Bing	ELISA	– RT-PCR –



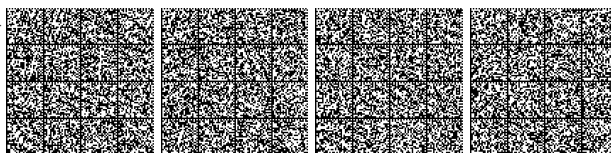
Virus della maculatura anulare del pomodoro <i>Tomato black ring virus</i>	TBRV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta		ELISA	– RT-PCR –
Virus della maculatura anulare verde del ciliegio <i>Cherry green ring mottle virus</i>	CGRMV	– <i>Prunus serrulata</i> – cv. Kwanzan o Shirofugen	– <i>Prunus serrulata</i> – cv. Kwanzan o Shirofugen		– RT-PCR
Virus 1 della ciliegia nana <i>Little cherry virus 1</i>	LChV-1	– <i>Prunus avium</i> – Canindex I	– <i>Prunus avium</i> – Sam o Canindex I		– RT-PCR
Virus 2 della ciliegia nana <i>Little cherry virus 2</i>	LChV-2	– <i>Prunus avium</i> – Canindex I	– <i>Prunus avium</i> – Sam o Canindex I		– RT-PCR
Virus della maculatura rugginosa necrotica del ciliegio <i>Cherry necrotic rusty mottle virus</i>	CRMV	– <i>Prunus avium</i> – Sam o Bing	– <i>Prunus avium</i> – Sam o Bing		– RT-PCR
Virus associato al la butteratura e necrosi della corteccia del susino <i>Plum bark necrosis stem pitting – associated virus</i>	PBNSPaV			ELISA	– RT-PCR –
Virus della maculatura lineare americana del susino <i>American plum line pattern virus</i>	APLPV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>P. armeniaca</i> Priana	– <i>P. persicae</i> GF305	ELISA	– RT-PCR –
AGENTI PATOGENI VIRUS-SIMILI					
Rusty mottle (european)	CRM	– <i>Prunus avium</i> – Sam o Bing	– <i>Prunus avium</i> – Sam o Bing		
FUNGHI			METODO DIAGNOSTICO		
<i>Verticillium dahliae</i> <i>Chondrostereum purpureum</i> <i>Armillaria mellea</i> <i>Rosellinia necatrix</i>			Isolamento		
BATTERI					
		Saggi microbiologici	Saggi sierologici	Saggi biomolecolari	
Tumore batterico <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	<i>A.t.</i>			PCR, Real Time PCR	
<i>Xyella fastidiosa</i>	<i>Xf</i>		ELISA	PCR, Real Time PCR	



Mandorlo					
Agente eziologico / Malattia	Acronimo	indicatori arborei Saggi biologici		Test	Test Biomolecolari
		Serra	Campo	Microscopi ci/ Sierologici	
VIRUS					
Virus del mosaico del melo <i>Apple mosaic virus</i>	ApMV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>P. persicae</i> GF305	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della maculatura clorotica fogliare del melo <i>Apple chlorotic leaf spot virus</i>	ACLSV	– <i>Prunus persicae</i> – GF305 o Elberta	– <i>P. persicae</i> GF305	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della maculatura anulare necrotica dei <i>Prunus</i> <i>Prunus necrotic ring spot virus</i>	PNRSV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus del nanismo del susino <i>Prune dwarf virus</i>	PDV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus associato al la butteratura e necrosi della corteccia del susino <i>Plum bark necrosis stem pitting – associated virus</i>	PBNSPaV			ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
FUNGHI			METODO DIAGNOSTICO		
<i>Verticillium dahliae</i> <i>Chondrostereum purpureum</i> <i>Armillaria mellea</i> <i>Rosellinia necatrix</i>			Isolamento		
BATTERI					
	A.t.	Saggi microbiologici	Saggi sierologici	Saggi biomolecolari	
Tumore batterico <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	A.t.			PCR, Real Time PCR	
Xylella fastidiosa	Xf		ELISA	PCR, Real Time PCR	



Pesco					
Agente eziologico / Malattia	Acronimo	indicatori arborei saggi biologici		Test	Test Biomolecolari
		Serra	Campo	Microscopi ci/ Sierologici	
VIRUS					
Virus del mosaico del melo <i>Apple mosaic virus</i>	ApMV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della maculatura clorotica fogliare del melo <i>Apple chlorotic leaf spot virus</i>	ACLSV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della maculatura anulare necrotica dei <i>Prunus</i> <i>Prunus necrotic ring spot virus</i>	PNRSV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o hirofugen	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus del nanismo del susino <i>Prune dwarf virus</i>	PDV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della maculatura anulare verde del ciliegio <i>Cherry green ring mottle virus</i>	CGRMV	– <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	– <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen		– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della maculatura anulare del pomodoro <i>Tomato black ring virus</i>	TBRV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta		ELISA	– RT-PCR –
Virus della maculatura anulare latente della fragola <i>Strawberry latent ringspot virus</i>	SLRSV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	ELISA	– RT-PCR –
Virus della vaiolatura delle drupacee o Sharka <i>Plum pox virus</i>	PPV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus associato al la butteratura e necrosi della corteccia del susino <i>Plum bark necrosis stem pitting – associated virus</i>	PBNSPaV			ELISA	– RT-PCR – Ibridazione
Virus latente dell’albicocco	ALV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta		– RT-PCR –

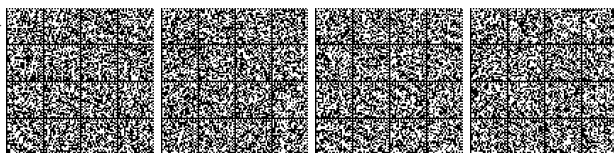


<i>Apricot latent virus</i>			– <i>P. armeniaca</i> Priana		
Virus della maculatura lineare americana del susino <i>American plum line pattern virus</i>	APLPV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>P. armeniaca</i> Priana	– <i>Prunus persicae</i> GF305	ELISA	– RT-PCR –
FITOPLASMI					
Fitoplasma del giallume europeo delle drupacee - (European stone fruit yellow phytoplasma) <i>Candidatus phytoplasma prunorum</i>	ESFY	– <i>P. persicae</i> GF305	– <i>P. armeniaca</i> Priana		– PCR – Real Time PCR
VIROIDI					
Viroide del mosaico latente del pesco <i>Peach latent mosaic viroid</i>	PLMVd				– – RT-PCR – Real Time PCR
Viroide del nanismo del luppolo <i>Hop stunt viroid</i>	HSVd				– RT-PCR – Real Time PCR

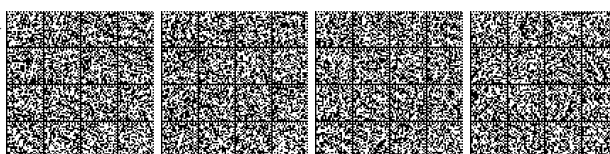
FUNGHI			METODO DIAGNOSTICO		
<i>Verticillium dahliae</i> <i>Chondrostereum purpureum</i> <i>Armillaria mellea</i> <i>Rosellinia necatrix</i>			Isolamento		
BATTERI					
	<i>A.t.</i>	Saggi microbiologici	Saggi sierologici	Saggi biomolecolari	
Tumore batterico <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	<i>A.t.</i>			PCR, Real Time PCR	
Xylella fastidiosa	<i>Xf</i>		ELISA	PCR, Real Time PCR	
Susino					
Agente eziologico / Malattia	Acronimo	indicatori arborei saggi biologici		Test	Test Biomolecolari
		Serra	Campo	Microscopi ci/Sierologici	



VIRUS					
Virus del mosaico del melo <i>Apple mosaic virus</i>	ApMV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della maculatura clorotica fogliare del melo <i>Apple chlorotic leaf spot virus</i>	ACLSV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della maculatura anulare necrotica dei <i>Prunus</i> <i>Prunus necrotic ring spot virus</i>	PNRSV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	– ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus del nanismo del susino <i>Prune dwarf virus</i>	PDV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>Prunus serrulata</i> cv. Kwanzan o Shirofugen	– ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della maculatura anulare latente del mirabolano <i>Mirabolan latent ring spot virus</i>	MLRSV	– <i>P. persicae</i> GF305	– <i>P. persicae</i> GF305	– ELISA	– RT-PCR –
Virus della vaiolatura delle drupacee o Sharka <i>Plum pox virus</i>	PPV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta	– ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus associato alla necrosi corticale ed alla infossatura del legno del susino <i>Plum bark necrosis stem pitting - associated virus</i>	PBNSaV			– ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
Virus della maculatura lineare americana del susino <i>American plum line pattern virus</i>	APLPV	– <i>Prunus persicae</i> GF305 o Elberta – <i>P. armeniaca</i> Priana	– <i>P. persicae</i> GF305	– ELISA	– RT-PCR – Real Time PCR
FITOPLASMI					
Fitoplasma del giallume europeo delle drupacee - (European stone fruit yellow phytoplasma) <i>Candidatus phytoplasma prunorum</i>	ESFY	– <i>P. persicae</i> GF305	– <i>Prunus armeniaca</i> cv. Luizet o Priana	–	– PCR – Real Time PCR
VIROIDI					
Viroide del nanismo del luppolo <i>Hop stunt viroid</i>	HSVd				– Real Time PCR – RT-PCR
FUNGHI			METODO DIAGNOSTICO		



<i>Verticillium dahliae</i>		Isolamento		
<i>Chondrostereum purpureum</i>				
<i>Armillaria mellea</i>				
<i>Rosellinia necatrix</i>				
BATTERI				
		Saggi microbiologici	Saggi sierologici	Saggi biomolecolari
<i>Tumore batterico</i>	<i>A.t.</i>			PCR, Real Time PCR
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>				
<i>Xylella fastidiosa</i>	<i>Xf</i>		ELISA	PCR, Real Time PCR



PARTE B
MEZZI NECESSARI ALLA CONDUZIONE ED ALLA PRODUZIONE *IN VIVO*
DEI MATERIALI DI CATEGORIA “PREBASE” E “BASE”

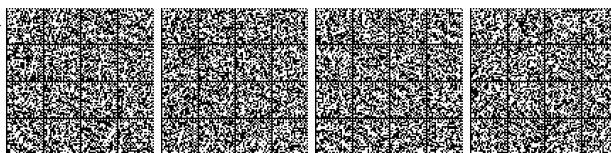
Strutture

Le Fasi di Conservazione e di Premoltiplicazione devono essere effettuate in serre a rete a prova d'insetti (screen house). Le serre devono avere dimensioni tali da soddisfare lo sviluppo previsto in funzione del volume dei contenitori utilizzati e devono rispondere ai seguenti requisiti:

1. essere realizzate a tetto rigido e con pareti con una doppia rete con maglia 20/10 (20 fili/cm in ordito e 10 fili/cm in trama) e provviste di vestibolo con pareti con doppia rete e con doppia porta;
2. essere isolate dall'afflusso delle acque superficiali mediante un cordolo o altri manufatti che assicurino l'isolamento, dichiarati idonei dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio;
3. essere provviste di un vespaio perimetrale di almeno 80 cm di larghezza e di profondità superiore di almeno 20 cm rispetto al piano interno;
4. la pavimentazione deve garantire il completo isolamento tra i contenitori e il terreno o con il piano di calpestio che può essere realizzato
 - con adeguato vespaio rifinito con brecciolino o altro materiale inerte che assicuri un efficiente drenaggio;
 - con battuto di cemento o altro materiale. In tal caso i contenitori, i cassoni per i semenzai e i bancali di ambientamento devono essere opportunamente distanziati dal piano di calpestio utilizzando appositi supporti di almeno 20 cm di altezza;
5. piante appartenenti a livelli qualitativi diversi possono essere allevate nella stessa screen house purché separate da doppia rete.

Allevamento e produzione

1. Il materiale di “Prebase” e “Base” deve essere conservato e moltiplicato in screen house e deve essere allevato in contenitori di adeguato volume;
2. le piante devono essere numerate progressivamente in modo stabile in sito al momento dell'introduzione;
3. il terriccio o il substrato utilizzato deve essere esente dai nematodi *Longidorus elongatus*, *L. attenuatus*, *L. macrosoma*, *Xiphinema diversicaudatum*, *X. rivesi* e dai funghi *Verticillium dahliae* e *Chondrostereum purpureum*; tale esenzione deve essere documentata;
4. le piante madri di “Base” possono essere allevate per un massimo di 20 anni dall'immissione in screen house, salvo diversa prescrizione del Servizio fitosanitario regionale competente per territorio;
5. i contenitori, i cassoni utilizzati per la radicazione, per l'ambientamento e per i semenzai devono essere sollevati di almeno 20 cm dal piano di calpestio;
6. prima dell'utilizzo i cassoni utilizzati per la radicazione, per l'ambientamento e per i semenzai devono essere trattati con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2% per almeno 20/30 minuti;
7. ogni cessione di materiale da parte del Centro di Premoltiplicazione (CP) deve essere registrata e comunicata tempestivamente (tramite fax e/o e-mail) al Servizio fitosanitario regionale competente per territorio ed a quello del destinatario finale;
8. tutte le operazioni sono registrate nell'apposito Registro di conduzione;
9. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.



PARTE C
MEZZI NECESSARI ALLA CONDUZIONE DELLE PIANTE MADRI ED ALLA
PRODUZIONE *IN VIVO* DEI MATERIALI DI CATEGORIA “CERTIFICATO”

SEZIONE I - Campi di Piante Madri

I campi di piante madri certificate, portamarze (PMM) e portasemi (PMS), devono rispondere ai seguenti requisiti:

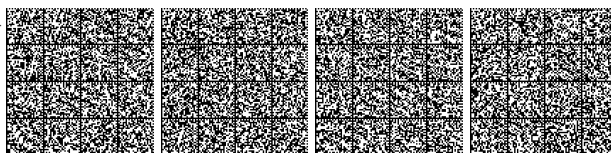
1. ubicati in aree dichiarate, dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio, esenti da focolai di Sharka (virus della vaiolatura delle drupacee - PPV) e da altri organismi nocivi da quarantena;
2. realizzati su terreni che rispondano ai normali requisiti di idoneità agronomica e sanitaria, esenti dai nematodi *Longidorus elongatus*, *L. attenuatus*, *L. macrosoma*, *Xiphinema diversicaudatum* e *X. rivesi*, dai funghi *Verticillium dahliae* e *Chondrostereum purpureum*; tale assenza deve essere documentata;
3. realizzati su terreni che non abbiano ospitato da almeno 5 anni altre specie arboree;
4. localizzati in zone isolate o posti a distanza da altre piante di prunoidee, salvo diverse prescrizioni più restrittive del Servizio fitosanitario regionale competente per territorio, ad almeno
 - 600 metri, nel caso di piante madri portaseme (PMS) di ciliegio e magaleppo;
 - 300 metri, nel caso di piante madri portaseme (PMS) di albicocco, mandorlo, pesco, susino;
 - 200 metri nel caso di piante madri portamarze (PMM);
5. l'impianto di piante madri da ceppaia, inoltre, deve essere realizzato su terreni esenti da *Agrobacterium tumefaciens*; tale assenza deve essere documentata;
6. avere una fascia di bordo di almeno 10 metri; su indicazione del Servizio fitosanitario regionale competente per territorio tali limiti possono essere ridotti qualora sia accertata l'assenza dei predetti nematodi nei campi limitrofi oppure siano approntate apposite barriere di protezione (fossati, scoline, ecc.);
7. isolati dall'afflusso di acque superficiali;
8. le acque di irrigazione devono risultare o essere rese libere da organismi nocivi; tale assenza deve essere documentata;
9. il sesto d'impianto deve essere tale da permettere l'esecuzione delle normali pratiche colturali e relativi controlli;
10. le piante devono essere numerate progressivamente in modo stabile in sito;
11. nel campo le file devono essere complete e distinte per accessione, qualora su una stessa fila venissero allevate accessioni diverse, è obbligatoria la loro separazione con interspazio doppio;
12. le piante madri portamarze (PMM) possono essere allevate al massimo per 15 anni dall'impianto;
13. le piante madri portaseme (PMS) possono essere allevate al massimo per 18 anni dall'impianto;
14. le piante madri per portinnesti da ceppaia possono essere allevate al massimo per 15 anni dall'impianto;
15. gli impianti devono essere attivamente difesi al fine di contenere lo sviluppo di patogeni, parassiti ed infestanti;
16. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.

SEZIONE II - Vivai (Semenzai, Nestai e Piantonai e strutture per la radicazione e l'ambientamento)

1. I vivai di piante certificabili devono essere ubicati in aree dichiarate, dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio, esenti da focolai di Sharka (virus della vaiolatura delle drupacee - PPV) e da altri organismi nocivi da quarantena salvo ulteriori prescrizioni del Servizio fitosanitario medesimo;
2. l'impianto deve essere costituito in appezzamenti esenti da *Armillaria mellea*, *Rosellinia necatrix* e *Agrobacterium tumefaciens*;
3. i terreni ed i substrati utilizzati devono essere esenti dai nematodi *Longidorus elongatus*, *L. attenuatus*, *L. macrosoma*, *Xiphinema diversicaudatum*, *X. rivesi*, *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita*, *M. javanica*, *Pratylenchus penetrans*, *P. vulnus* e dai funghi *Verticillium dahliae* e *Chondrostereum purpureum*; tale assenza deve essere documentata;
4. realizzati su terreni che non abbiano ospitato da almeno 2 anni altre specie arboree;
5. l'impianto deve essere collocato ad almeno 100 m da frutteti di prunoidee, tale limite può essere ridotto a 20 m, previa verifica fitosanitaria del Servizio fitosanitario competente;
6. distante almeno 2 m dai vivai adiacenti realizzati con materiali di propagazione di altra categoria;
7. nel caso di piante allevate fuori suolo devono essere utilizzati contenitori di adeguato volume;



8. le piante allevate in contenitore devono essere isolate dal terreno con uno strato di
 - brecciolino o altro materiale inerte che assicuri comunque un efficiente drenaggio, dell'altezza minima di 10 cm; nel caso si utilizzino teli pacciamanti, l'altezza minima del vespaio si riduce a 5 cm;
 - battuto di cemento o altro materiale; in tal caso i contenitori devono essere collocati su supporti dell'altezza di almeno 20 cm;
9. nel caso i contenitori siano poggiati sul terreno, esso deve avere le caratteristiche di cui al precedente punto 3;
10. l'area destinata all'allevamento in contenitore deve essere isolata dall'afflusso di acque superficiali e contemplare una fascia di bordo, tenuta libera da vegetazione, di almeno 2 m;
11. gli impianti devono essere attivamente difesi al fine di contenere lo sviluppo di patogeni, parassiti ed infestanti;
12. le piante devono essere suddivise in lotti omogenei, ben individuabili, riportati su mappa;
13. le parcelle devono essere omogenee, ben individuabili e separate da altro materiale di categoria CAC da uno spazio di almeno 2 m;
14. il ciclo produttivo delle piante da certificare non deve superare i tre anni dalla messa a dimora;
15. il terreno deve essere isolato dall'afflusso delle acque superficiali e sub-superficiali;
16. le acque di irrigazione devono risultare o essere rese libere da organismi nocivi; tale assenza deve essere documentata;
17. le strutture per la radicazione e l'ambientamento, devono essere isolate dall'afflusso delle acque superficiali e sub-superficiali e non devono essere a diretto contatto con il suolo ma sollevati di almeno 10 cm;
18. prima dell'utilizzo i cassoni devono essere trattati con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2% per almeno 20/30 minuti;
19. qualunque intervento cesorio, per ogni singolo lotto, deve essere eseguito con attrezzi precedentemente disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.



PARTE D

MEZZI NECESSARI PER LA PRODUZIONE *IN VITRO*

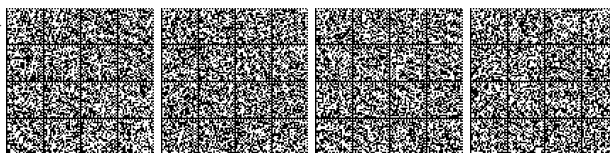
DI MATERIALE DI CATEGORIA “PREBASE”, “BASE” E “CERTIFICATO”

SEZIONE I - Produzione di materiale *in vitro* Categoria “Prebase” e “Base”

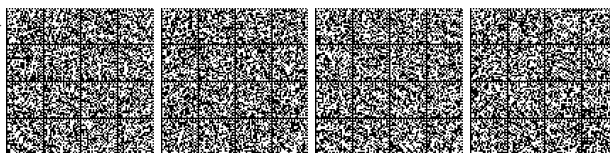
1. I prelievi iniziali degli espianti per la micropropagazione (moltiplicazione *in vitro* attraverso gemme ascellari) devono essere effettuati solo su individui coltivati presso i Centri di Conservazione per la Premoltiplicazione.
2. Le operazioni di trapianto devono essere annotate giornalmente su di un registro di prima nota e, settimanalmente, su apposito registro di carico e scarico, con pagine numerate progressivamente, non asportabili e vidimate dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio. Tale registro deve essere mantenuto costantemente nel laboratorio a disposizione di eventuali controlli. In detto registro sono annotati anche i contenitori eliminati per inquinamenti e/o anomalie morfo-fisiologiche delle colture, oltre ai contenitori trasferiti in frigorifero. Il registro potrà contenere cancellature che devono essere effettuate con un tratto di penna che consenta la lettura di quanto scritto in precedenza.
3. La durata complessiva delle subcolture di proliferazione è
 - per la fase di Conservazione n. 5 subcolture, mentre complessivamente eventuali periodi di frigoconservazione non dovranno superare i 12 mesi. Dopo tale periodo si ripartirà con un nuovo prelievo di espianti dal Centro di Conservazione per la Premoltiplicazione. Nella produzione di portainnesti e varietà cat. “Prebase” si possono far seguire a questa fase una subcoltura di allungamento e una di radicazione.
 - per la Premoltiplicazione n. 7 subcolture, mentre complessivamente eventuali periodi di frigoconservazione non dovranno superare i 12 mesi. In ogni caso il rinnovo del materiale in premoltiplicazione deve avvenire entro 2 anni dall’espianto iniziale. Dopo tale periodo si ripartirà con un nuovo prelievo di espianti dal Centro di Conservazione per la Premoltiplicazione.
4. Non è ammessa la micropropagazione di cloni chimerici per l'elevato rischio di non corrispondenza delle piante micropropagate al fenotipo di partenza.
5. Non è consentito utilizzare sostanze con possibile azione mutagena né sistemi di colture con organismi batterici per agevolare specifiche fasi.
6. Nel procedimento di moltiplicazione e radicazione, i laboratori devono adottare le seguenti precauzioni
 - eliminare i germogli eventualmente originatisi da tessuti indifferenziati (callo);
 - eliminare la parte basale del ciuffo di germogli al momento del trapianto ove è più frequente la proliferazione di tessuto indifferenziato;
 - utilizzare solo germogli originati da gemme ascellari;
 - eliminare le colture vitrescenti e/o con altre anomalie morfo-fisiologiche (fasciazioni in particolare);
7. I vasi di coltura devono essere mantenuti in un settore predeterminato e ben identificato del laboratorio e contrassegnati singolarmente, in modo da essere agevolmente identificabili, tramite etichette su cui riportare la data, il numero progressivo di subcoltura e la fase colturale: proliferazione, allungamento o radicazione.
8. I mezzi e le strutture utilizzate per la fase di ambientamento devono rispondere ai requisiti riportati nell’Allegato 2 del presente disciplinare.

SEZIONE II - Produzione di materiale Categoria “Certificato”

1. I laboratori devono richiedere, con lettera raccomandata al Centro di Premoltiplicazione, il numero iniziale di germogli sterili per ogni selezione. La consegna delle colture, in attiva moltiplicazione da parte dei Centri di Premoltiplicazione, avverrà entro 6 mesi dalla richiesta. Sarà possibile raggiungere, nella moltiplicazione *in vitro*, un massimo di 18 subcolture (anche se intercalate da un periodo - non più di uno - di conservazione frigorifera). In fase di allungamento o di radicazione è ammesso un periodo di conservazione frigorifera, anche se ve ne è stato un altro in precedenza.



2. La durata complessiva delle subcolture di proliferazione nella fase di moltiplicazione non dovrà superare i 2 anni, mentre complessivamente eventuali periodi di frigoconservazione non dovranno superare i 12 mesi. Dopo tale periodo si ripartirà con nuovi germogli sterili.
3. I vasi di coltura devono essere mantenuti in un settore predeterminato e ben identificato del laboratorio e contrassegnati singolarmente, in modo da essere agevolmente identificabili, tramite etichette su cui riportare la data, il numero progressivo di subcoltura e la fase colturale: proliferazione, allungamento o radicazione.
4. Le operazioni di trapianto devono essere annotate giornalmente su di un registro di prima nota e, settimanalmente, su apposito registro di carico e scarico, con pagine numerate progressivamente, non asportabili e vidimate dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio. Tale registro deve essere mantenuto costantemente nel laboratorio a disposizione di eventuali controlli. In detto registro sono annotati anche i contenitori eliminati per inquinamenti e/o anomalie morfo-fisiologiche delle colture, oltre ai contenitori trasferiti in frigorifero. Il registro potrà contenere cancellature che devono essere effettuate con un tratto di penna che consenta la lettura di quanto scritto in precedenza.
5. Non è consentito utilizzare sostanze con possibile azione mutagena né sistemi di colture con organismi batterici per agevolare specifiche fasi.
6. Nel procedimento di moltiplicazione e radicazione, i laboratori devono adottare le seguenti precauzioni:
 - terreni di coltura non devono indurre crescite e proliferazione superiore a 5 nuovi assi per singola subcoltura;
 - eliminare i germogli eventualmente originatisi da tessuti indifferenziati (callo);
 - eliminare la parte basale del ciuffo di germogli al momento del trapianto ove è più frequente la proliferazione di tessuto indifferenziato;
 - utilizzare solo germogli originati da gemme ascellari;
 - eliminare le colture vitrescenti e/o con altre anomalie morfofisiologiche (fasciazioni in particolare).



PARTE E

CONTROLLI SANITARI

SEZIONE I – materiale di categoria “Prebase”, “Base” e “Certificato”**Virus, viroidi, fitoplasmi e funghi**

Sono previsti due tipi di controlli:

1. visivi da effettuarsi
 - in primavera ed all’invasatura, per le malattie da virus;
 - nel periodo estivo per le malattie da viroidi e da fitoplasmi;
 - in concomitanza con il periodo di massima espressione sintomatologica, per le malattie da funghi e batteri;
2. saggi di laboratorio eseguiti secondo i protocolli indicati nelle tabelle da 1 a 10 del presente allegato.

Tutto il materiale derivante dalla prima moltiplicazione della fonte primaria all’ingresso nel Centro di Conservazione per la Premoltiplicazione (CCP) o nelle altre fasi deve essere singolarmente sottoposto agli accertamenti sanitari e di corrispondenza varietale secondo le procedure riportate nelle Tabelle da 1 a 10 del presente allegato.

SEZIONE II – terreno e sui substrati impiegati in ogni fase

Funghi: per *Verticillium dahliae* e *Chondrostereum purpureum*

Batteri: *Agrobacterium tumefaciens*

Saggi diagnostici: da eseguirsi sui terreni e substrati mediante tecniche di isolamento classiche.

Modalità di campionamento:

- terreno: prima dell’impianto e prima di qualsiasi lavorazione profonda, saranno prelevati 5 campioni per ettaro ciascuno costituito da 10 subcampioni, per un volume complessivo di almeno 1 litro;
- substrati: sarà prelevato un campione ogni 5 m³, costituito da 10 subcampioni, per un volume complessivo di almeno 1 litro.

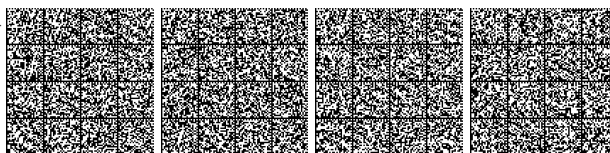
Nematodi: *Xiphinema diversicaudatum*, *X. rivesi*, *Longidorus.. elongatus*, *L. attenuatus*, *L. macrosoma*, **Pratylenchus vulnus*, **P. penetrans*, **Meloidogyne javanica*, **M. arenaria*, **M. hapla*.

Saggi diagnostici: da eseguirsi sui terreni e substrati mediante tecniche di isolamento classiche.

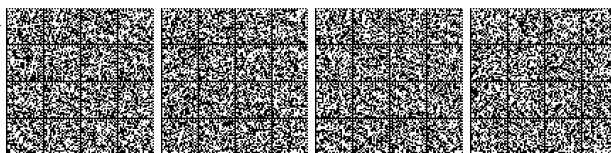
Modalità di campionamento:

- terreno: prima dell’impianto e prima di qualsiasi lavorazione profonda, saranno prelevati 5 campioni per ettaro ciascuno costituito da 10 subcampioni, per un volume complessivo di almeno 1 litro;
- substrati: sarà prelevato un campione ogni 5 m³, costituito da 10 subcampioni, per un volume complessivo di almeno 1 litro.

* solo per terreni e substrati utilizzati nella fase di produzione delle piante categoria “certificato” per le Piantine madri portinnesti da ceppaia e nei vivai.



CONTROLLI					
Patogeno o Malattia	Osservazioni visive		Saggio biologico		Saggio di laboratorio: sierologico o molecolare
	Periodicità	Epoca	Indicatore consigliato	Periodicità	Periodicità
VIRUS					
PPV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>P. persica</i> : GF 305 o Elberta <i>P. armeniaca</i> : Priana	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	<u>Foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C ELISA, RT-PCR, Real time PCR
ACLSV ApMV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>P. persica</i> : GF 305 o Elberta <i>P. armeniaca</i>	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	<u>Foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C <u>Foglie e rami</u> : marzo-maggio ELISA, RT-PCR, Real time PCR
PDV PNRSV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>P. persica</i> : GF 305 o Elberta; <i>P. serrulata</i> : Shirofugen o Kwanzan	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	<u>Foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C ELISA, RT-PCR, Real time PCR
ALV	Annuale	Nel periodo estivo	<i>P. persica</i> : GF 305 o Elberta <i>P. armeniaca</i>	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	<u>Foglie o tessuti floematici</u> : nel periodo estivo RT-PCR, Real time PCR
PBNSPaV	Annuale	In qualsiasi periodo dell'anno			<u>Foglie o tessuti floematici</u> : nel periodo estivo ELISA, RT-PCR, Real time PCR
VIROIDI					



<i>HSV/d</i>	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino all'autunno			Su tutte le piante una volta	Foglie; nel periodo estivo RT-PCR, Real Time PCR
FITOPLASMI						
ESFY	Annuale	Dall'autunno- inverno sino alla ripresa vegetativa	<i>P. persica:</i> GF 305	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno sul 10% delle piante	Piccioli e nervature fogliari, floema di rametti: nel periodo estivo PCR, Real time PCR

Tabelle delle procedure per la verifica dello stato sanitario delle Pianta Madri Portaseme (PMS) e Portamarze (PMM) di categoria "Prebase" e "Base"

Tabella 1 – Albicocco

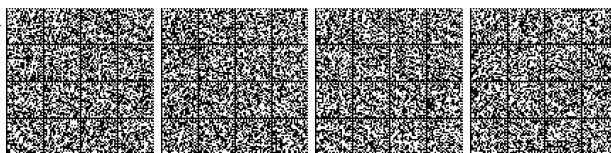
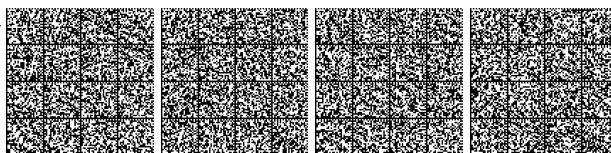


Tabella 2 – Ciliegio

CONTROLLI						
Patogeno o Malattia	Osservazioni visive		Saggio biologico		Saggio di laboratorio: sierologico o molecolare	
	Periodicità	Epoca	Indicatore consigliato	Periodicità	Periodicità	Epoca, tipo di campione e Test
VIRUS						
PPV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>P. persica</i> : GF 305 o Elberta <i>P. armeniaca</i> : Priana	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	Su tutte le piante ogni anno	<u>Foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C <u>Bruno</u> : periodo di riposo vegetativo ELISA, RT-PCR, , Real time PCR
PDV PNRSV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>P. persica</i> : GF 305 o Elberta; <i>P. serrulata</i> : Shirofugen o Kwanzan	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	Su tutte le piante nell'arco di 6 anni	<u>Fiori e foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C <u>Bruno</u> : periodo di riposo vegetativo ELISA, RT-PCR, , Real time PCR
ACLSV ApMV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>P. persica</i> : GF 305 o Elberta	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	Su tutte le piante nell'arco di 6 anni	<u>Foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C <u>Foglie e rami</u> : marzo-maggio ELISA, RT-PCR, , Real time PCR



CLRV CRLV RpRSV SLRSV TBRV ArMV CNRMV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>P. persica:</i> GF 305 o Elberta	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	Su tutte le piante nell'arco di 6 anni	<u>Foglie:</u> dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C <u>Foglie e rami:</u> marzo-maggio ELISA, RT-PCR, , Real time PCR
APLPV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>P. persica:</i> GF 305 o Elberta <i>P. armeniaca</i>	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	Su tutte le piante una volta	<u>Foglie o tessuti floematici:</u> nel periodo estivo ELISA, RT-PCR, , Real time PCR
PBNSPaV	Annuale	In qualsiasi periodo dell'anno			Su tutte le piante una volta	<u>Foglie o tessuti floematici:</u> nel periodo estivo ELISA, RT-PCR, , Real time PCR
CGRMV LChV-1 LChV-2	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C				
VIRUS SIMILI						
CRM	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C				

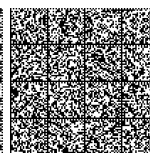
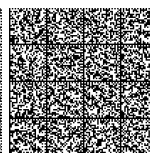
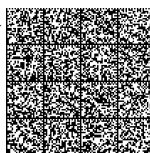


Tabella 3 – Mandorlo

CONTROLLI						
Patogeno o Malattia	Osservazioni visive		Saggio biologico		Saggio di laboratorio: sierologico o molecolare	
	Periodicità	Epoca	Indicatore consigliato	Periodicità	Periodicità	Epoca, tipo di campione e Test
VIRUS						
PPV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>P. persica</i> : GF 305 o Elberta	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	Su tutte le piante ogni anno	<u>Foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C <u>Bruno</u> : periodo di riposo vegetativo ELISA, RT-PCR, Real time PCR
PDV PNRSV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>P. persica</i> : GF 305 o Elberta; <i>P. serrulata</i> : Shirofugen o Kwanzan	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	Su tutte le piante nell'arco di 6 anni	<u>Fiori e foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C <u>Bruno</u> : periodo di riposo vegetativo ELISA, RT-PCR, Real time PCR
ACLSV ApMV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>P. persica</i> : GF 305 o Elberta	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	Su tutte le piante nell'arco di 6 anni	<u>Foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C <u>Foglie e rami</u> : marzo-maggio ELISA, RT-PCR, Real time PCR
PBNSPaV	Annuale	In qualsiasi periodo dell'anno			Su tutte le piante una volta	<u>Foglie o tessuti floematici</u> : nel periodo estivo ELISA, RT-PCR,

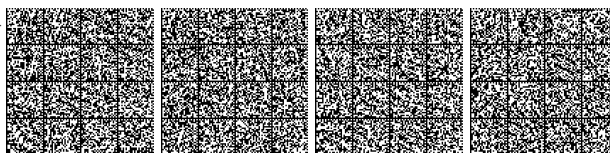
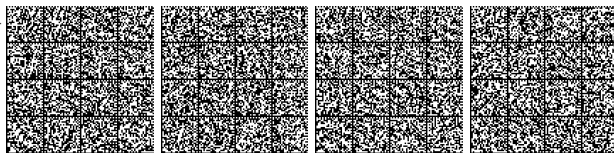


Tabella 4 – Pesco

CONTROLLI					
<i>Patogeno o Malattia</i>	<i>Osservazioni visive</i>		<i>Saggio biologico</i>		
	Periodicità	Epoca	Indicatore consigliato	Periodicità	Saggio di laboratorio: sierologico o molecolare Epoca, tipo di campione e Test
VIRUS					
PPV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>P. persica</i> : GF 305 o Elberta	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	Su tutte le piante ogni anno <u>Foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C <u>Bruno</u> : periodo di riposo vegetativo ELISA, RT-PCR, , Real time PCR
PDV PNRSV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>P. persica</i> : GF 305 o Elberta; <i>P. serrulata</i> : Shirofugen o Kwanzan	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	Su tutte le piante nell'arco di 6 anni <u>Fiori e foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C <u>Bruno</u> : periodo di riposo vegetativo ELISA, RT-PCR, , Real time PCR
ACLSV ApMV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>P. persica</i> : GF 305 o Elberta	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	Su tutte le piante nell'arco di 6 anni <u>Foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C <u>Foglie e rami</u> : marzo-maggio ELISA, RT-PCR, , Real time PCR
APLPV SLRSV TBRV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C			Su tutte le piante nell'arco di 6 anni <u>Foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C ELISA, RT-PCR,



ALV CGRMV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>P. persica:</i> GF 305 o Elberta <i>P. armeniaca</i>	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	Su tutte le piante una volta	<u>Foglie o tessuti floematici:</u> nel periodo estivo RT-PCR
PBNPaV	Annuale	In qualsiasi periodo dell'anno			Su tutte le piante una volta	<u>Foglie o tessuti floematici:</u> nel periodo estivo ELISA, RT-PCR, Real time PCR
VIROIDI						
PLMVd	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino all'autunno			Annuale a partire dal 5° anno	<u>Foglie:</u> nel periodo estivo RT-PCR, Real time PCR
HSVd	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino all'autunno			Annuale a partire dal 5° anno	<u>Foglie:</u> nel periodo estivo RT-PCR, Real time PCR
FITOPLASMI						
ESFY	Annuale	Dall'autunno - inverno sino alla ripresa vegetativa	<i>P. persica:</i> GF 305	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno sul 10% delle piante	<u>Piccioli e nervature fogliari, floema di rametti:</u> nel periodo estivo PCR, Real time PCR

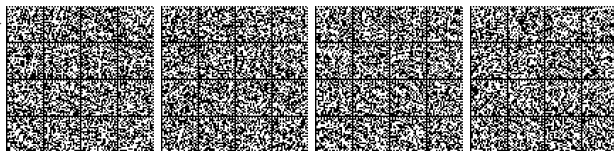
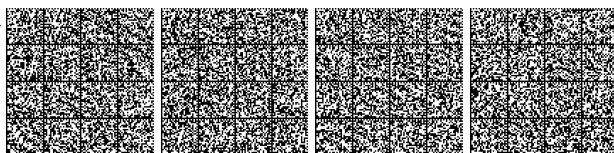


Tabella 5 – Susino

CONTROLLI						
Patogeno o Malattia	Osservazioni visive		Saggio biologico		Saggio di laboratorio: sierologico o molecolare	
	Periodicità	Epoca	Indicatore consigliato	Periodicità	Periodicità	Epoca, tipo di campione e Test
VIRUS						
PPV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>Prunus persica</i> : GF 305 o Elberta	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	Su tutte le piante ogni anno	<u>Foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C <u>Bruno</u> : periodo di riposo vegetativo ELISA, RT-PCR, , Real time PCR
PDV PNRSV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>P. persica</i> : GF 305 o Elberta; <i>P. serrulata</i> : Shirofugen o Kwanzan	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	Su tutte le piante nell'arco di 6 anni	<u>Fiori e foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C <u>Bruno</u> : periodo di riposo vegetativo ELISA, RT-PCR, , Real time PCR
ACLSV ApMV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>P. persica</i> : GF 305 o Elberta	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	Su tutte le piante nell'arco di 6 anni	<u>Foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C <u>Foglie e rami</u> : marzo-maggio ELISA, RT-PCR, , Real time PCR
MLRSV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C				
APLPV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<i>P. persica</i> : GF 305 o Elberta <i>P. armeniaca</i>	Ogni 5 anni a partire dal 5° anno	Su tutte le piante una volta	<u>Foglie o tessuti floematici</u> : nel periodo estivo ELISA, RT-PCR,



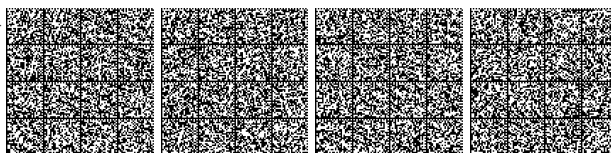
PBNSPaV	Annuale	In qualsiasi periodo dell'anno			Su tutte le piante una volta	Foglie o tessuti floematici: nel periodo estivo ELISA, RT-PCR,
VIROIDI						
HSVd	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino all'autunno			Su tutte le piante una volta	Foglie: nel periodo estivo RT-PCR, Real time PCR
FITOPLASMI						
ESFY	Annuale	Dall'autunno - inverno sino alla ripresa vegetativa			Ogni 5 anni a partire dal 5° anno sul 10% delle piante	Piccioli e nervature fogliari, floema di rametti: nel periodo estivo PCR, Real time PCR



Tabelle delle procedure per la verifica dello stato sanitario delle Pianta Madri Portaseme (PMS) e Portamarze (PMM) di categoria "Certificato"

Tabella 6 – Albicocco

CONTROLLI			
<i>Patogeno o Malattia</i>	Osservazioni visive		Saggio di laboratorio: sierologico o molecolare
	Periodicità	Epoca	Periodicità
VIRUS			
PPV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Foglie: dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C Bruno: periodo di riposo vegetativo ELISA, RT-PCR, Real time PCR
PDV PNRSV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Fiori e foglie: dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C Bruno: periodo di riposo vegetativo ELISA, RT-PCR, Real time PCR
ACLSV ApMV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	
ALV	Annuale	Nel periodo estivo	
PBNSPaV	Annuale	In qualsiasi periodo dell'anno	
VIROIDI			



<i>HSV/d</i>	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino all'autunno		
FTOPLASMI				
ESFY	Annuale	Dall'autunno - inverno sino alla ripresa vegetativa		

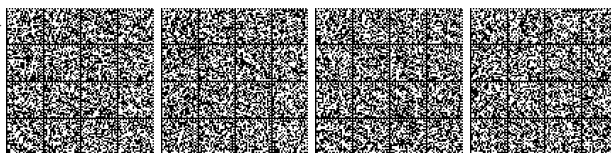
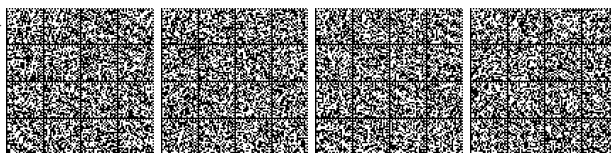


Tabella 7 – Ciliegio

CONTROLLI				
<i>Patogeno o Malattia</i>	Osservazioni visive		Saggio di laboratorio: sierologico o molecolare	
	Periodicità	Epoca	Periodicità	Epoca, tipo di campione e Test
VIRUS				
PPV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Su tutte le piante ogni anno	<u>Foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C <u>Bruno</u> : periodo di riposo vegetativo ELISA, RT-PCR, , Real time PCR
PDV PNRSV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Il 10% delle piante ogni anno	<u>Fiori e foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C <u>Bruno</u> : periodo di riposo vegetativo ELISA, RT-PCR, , Real time PCR
ACLSV ApMV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C		



CLRV CRLV				
RpRSV SLRSV TBRV				
ArMV				
CGRMV				
LChV-1				
LChV-2				
APLPV CNRMV				
PBNPaV	Annuale	In qualsiasi periodo dell'anno		
VIRUS-SIMILI				
CRM	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C		

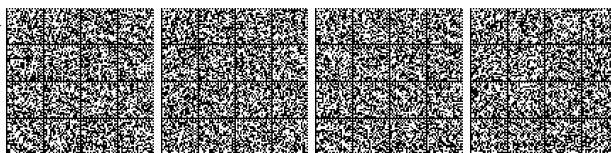


Tabella 8 – Mandorlo

CONTROLLI			
<i>Patogeno o Malattia</i>	Osservazioni visive		Saggio di laboratorio: sierologico o molecolare
	Periodicità	Epoca	Periodicità
VIRUS			
PPV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<u>Foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C <u>Bruno</u> : periodo di riposo vegetativo ELISA, RT-PCR, Real time PCR
PDV PNRSV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	<u>Fiori e foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C <u>Bruno</u> : periodo di riposo vegetativo ELISA, RT-PCR, Real time PCR
ACLSV ApMV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	
PBNSPaV	Annuale	In qualsiasi periodo dell'anno	

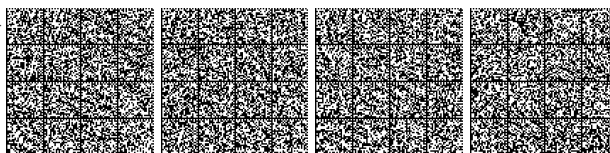
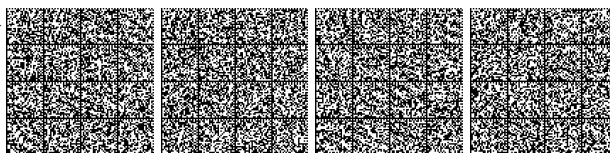


Tabella 9 Pesco

CONTROLLI				
<i>Patogeno o Malattia</i>	Osservazioni visive		Saggio di laboratorio: sierologico o molecolare	
	Periodicità	Epoca	Periodicità	Epoca, tipo di campione e Test
VIRUS				
PPV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Su tutte le piante ogni anno	<u>Foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C <u>Bruno</u> : periodo di riposo vegetativo ELISA, RT-PCR, , Real time PCR
PDV PNRSV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Il 10% delle piante ogni anno	<u>Fiori e foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C <u>Bruno</u> : periodo di riposo vegetativo ELISA, RT-PCR, , Real time PCR
ACLSV ApMV APLPV SLRSV TBRV CGRMV ALV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C		
PBNSPaV	Annuale	In qualsiasi periodo dell'anno		
VIROIDI				



<i>PLMVd</i>	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino all'autunno		
<i>HSVd</i>	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino all'autunno		
FITOPLASMI				
ESFY	Annuale	Dall'autunno - inverno sino alla ripresa vegetativa		

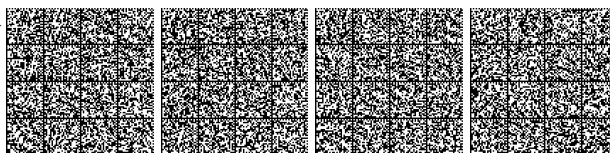
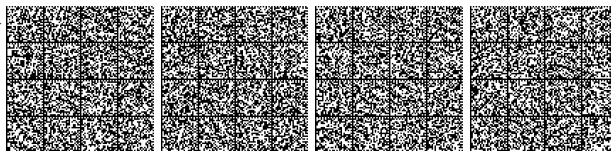
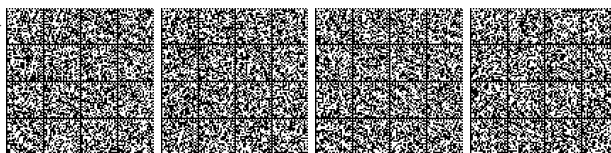


Tabella 10 – Susino

CONTROLLI				
<i>Patogeno o Malattia</i>	Osservazioni visive		Saggio di laboratorio: sierologico o molecolare	
	Periodicità	Epoca	Periodicità	Epoca, tipo di campione e Test
VIRUS				
PPV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Su tutte le piante ogni anno	<u>Foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C <u>Bruno</u> : periodo di riposo vegetativo ELISA, RT-PCR, , Real time PCR
PDV PNRSV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C	Il 10% delle piante ogni anno	<u>Fiori e foglie</u> : dalla ripresa vegetativa sino a temperatura di 25°C <u>Bruno</u> : periodo di riposo vegetativo ELISA, RT-PCR, , Real time PCR
ACLSV ApMV APLPV MLRSV	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino a temperature di 25°C		
PBNSPaV	Annuale	In qualsiasi periodo dell'anno		
VIROIDI				
HSVd	Annuale	Dalla ripresa vegetativa sino all'autunno		
FITOPLASMI				



ESFY	Annuale	Dall'autunno - inverno sino alla ripresa vegetativa		



PARTE F

CONTROLLI DI CORRISPONDENZA VARIETALE O SELEZIONE CLONALE

La certificazione di corrispondenza genetica è basata su osservazioni pomologiche ed agronomiche. Può essere effettuata anche con il supporto di tecniche molecolari qualora la fonte primaria immessa nei canali della certificazione nazionale sia stata corredata di idonea documentazione molecolare.

SEZIONE I - Controlli sul materiale di “Prebase” e di “Base”

Per le cultivar e per i cloni di prunoidee destinati alla produzione dei frutti, potrà essere rilasciata solo dopo:

- aver osservato almeno una fruttificazione, oppure
- aver verificato attraverso analisi del DNA mediante microsatelliti SSR su una base di non meno di 20 "coppie di primer", base fornita dal costituente in grado di distinguere la varietà o il clone, a seconda che si tratti della registrazione di una varietà o di un nuovo clone, o effettuata con una o più tecniche ritenute appropriate, secondo le modalità fornite dal costituente (RAPD, RFLP, AFLP ecc.)

La certificazione di corrispondenza genetica per i portainnesti clonali potrà essere rilasciata solo dopo:

- avere effettuato almeno due cicli vegetativi annuali di propagazione in vivaio ed averne verificato la corrispondenza al fenotipo, oppure
- la rispondenza potrà essere verificata attraverso analisi del DNA mediante microsatelliti SSR su una base di non meno di 20 "coppie di primer", base fornita dal costituente in grado di distinguere il clone, o effettuata con una o più tecniche ritenute appropriate, secondo le modalità fornite dal costituente (RAPD, RFLP, AFLP etc.).

Nel caso di verifica di rispondenza genetica per chiave morfologica, nei primi uno-due anni di fioritura e di fruttificazione andranno effettuati, e ripetuti ogni anno in tutti i suddetti tipi di materiale, almeno due controlli durante il ciclo vegetativo, in corrispondenza delle seguenti fasi fenologiche:

- fioritura;
- epoca di raccolta dei frutti.

SEZIONE II - Controlli sulle Piante Madri “Certificate”

Prima di poter procedere al prelievo di materiale certificato il Servizio fitosanitario regionale competente dovrà attestare la corrispondenza varietale su tutte le piante dopo:

- avere osservato almeno una fruttificazione, oppure
- avere verificato attraverso analisi del DNA mediante microsatelliti SSR su una base di non meno di 20 "coppie di primer", base fornita dal costituente in grado di distinguere la varietà o il clone, a seconda che si tratti della registrazione di una varietà o di un nuovo clone, o effettuata con una o più tecniche ritenute appropriate, secondo le modalità fornite dal costituente (RAPD, RFLP, AFLP etc.).

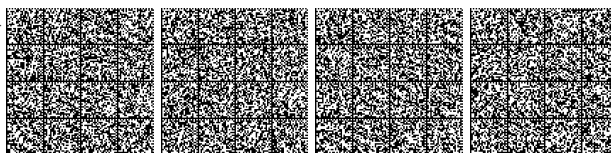


CAPO VI - NOCCIOLO

PARTE A

MALATTIE E ORGANISMI NOCIVI DI CUI DEVE ESSERE ACCERTATA L'ASSENZA NELLE PIANTE MADRI DI CATEGORIA "PRE-BASE" E DEL MATERIALE DI CATEGORIA "PREBASE", "BASE" E "CERTIFICATO" E RELATIVI SAGGI

<i>Agente eziologico/malattia</i>	<i>Acronimo</i>	<i>Saggi Biologici (indicatori legnosi)</i>		est microscopici/sierologici	st biomolecolari
Virus					
<i>Virus del mosaico del Melo</i>	<i>ApMV</i>			– <i>ELISA</i>	– <i>RT PCR</i> – <i>Real time PCR</i>
Fitoplasmi					
<i>Maculatura anulare del Nocciolo</i>	<i>HML Fitoplasma</i>				– <i>PCR</i>
Batteri					
Cancro batterico o Moria <i>(Pseudomonas avellanae)</i>				– <i>Isolamento</i>	– <i>PCR</i>
<i>maculatura batterica (Xanthomonas arboricola pv.Corylina)</i>				– <i>Isolamento</i>	– <i>PCR</i>
<i>Tumore batterico (Agrobacterium tumefaciens)</i>				– <i>Isolamento</i>	– <i>PCR</i>
Funghi					
<i>Marciume radicale fibroso (Armillaria mellea)</i>				– <i>Isolamento</i>	– <i>PCR</i>
<i>Marcume radicale lanoso (Rosellinia necatrix)</i>				– <i>Isolamento</i>	– <i>PCR</i>
<i>Verticilloso (Verticillium dahliae e Verticillium albo-atrum)</i>				– <i>Isolamento</i>	– <i>PCR</i>
<i>Cancri ramiali (Nectria galligena)</i>				– <i>Isolamento</i>	– <i>PCR</i>



PARTE B
MEZZI NECESSARI ALLA CONDUZIONE ED ALLA PRODUZIONE *IN VIVO*
DEI MATERIALI DI CATEGORIA “PRE-BASE” E “BASE”

Strutture

Le Fasi di Conservazione e di Premoltiplicazione devono essere effettuate in serre a rete a prova d'insetti (screen house). Le serre devono avere dimensioni tali da soddisfare lo sviluppo previsto in funzione del volume dei contenitori utilizzati e devono rispondere ai seguenti requisiti:

1. essere realizzate a tetto rigido e con pareti con una doppia rete con maglia 20/10 (20 fili/cm in ordito e 10 fili/cm in trama) e provviste di vestibolo con pareti con doppia rete e con doppia porta.
2. essere isolate dall'afflusso delle acque superficiali mediante un cordolo o altri manufatti che assicurino l'isolamento, dichiarati idonei dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio;
3. essere provviste di un vespaio perimetrale di almeno 80 cm di larghezza e di profondità superiore di almeno 20 cm rispetto a quello interno;
4. la pavimentazione deve garantire il completo isolamento tra i contenitori e il terreno o con il piano di calpestio che può essere realizzato
 - con adeguato vespaio rifinito con brecciolino o altro materiale inerte che assicuri un efficiente drenaggio;
 - con battuto di cemento o altro materiale. In tal caso i contenitori, i cassoni per i semenzai e i bancali di ambientamento devono essere opportunamente distanziati dal piano di calpestio utilizzando appositi supporti di almeno 20 cm di altezza;
5. piante appartenenti a livelli qualitativi diversi possono essere allevate nella stessa screen house purché separate da doppia rete.

Allevamento e produzione

1. Il materiale di “Pre-Base” deve essere conservato e moltiplicato in screen house e deve essere allevato in contenitori di adeguato volume;
2. il materiale di “Base” deve essere conservato e moltiplicato in screen house e deve essere allevato in contenitori di adeguato volume oppure in pieno campo ad almeno 100 metri di distanza da altre piante di nocciolo di qualsiasi tipo.
3. le piante devono essere numerate progressivamente in modo stabile in sito al momento dell'introduzione;
4. il terriccio o substrato utilizzato deve essere esente dai Funghi:
 - i. *Armillaria mellea*
 - ii. *Nectria galligena*
 - iii. *Roselinia necatrix*
 - iv. *Verticillium albo-atrum*
 - v. *Verticillium dahliae*tale esenzione deve essere documentata;
5. le piante madri di “Base” possono essere allevate per un massimo di 30 anni dall'immissione in screen house, salvo diversa prescrizione del Servizio fitosanitario regionale competente per territorio;
6. Una pianta madre di base, può essere moltiplicata al massimo per due generazioni.
7. i contenitori, i cassoni utilizzati per la radicazione, per l'ambientamento e per i semenzai devono essere sollevati di almeno 20 cm dal piano di calpestio;
8. prima dell'utilizzo i cassoni per la radicazione, per l'ambientamento e per i semenzai devono essere trattati con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2% per almeno 20/30 minuti;
9. ogni cessione di materiale da parte del Centro di Premoltiplicazione (CP) deve essere registrata tempestivamente nell'apposito registro;
10. tutte le operazioni sono registrate nell'apposito Registro di conduzione;
11. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.



PARTE C

MEZZI NECESSARI ALLA CONDUZIONE DELLE PIANTE MADRI ED ALLA

PRODUZIONE *IN VIVO* DEI MATERIALI DI CATEGORIA “CERTIFICATO”**Campi di Pianta Madri**

I campi di piante madri certificate, portamarze e le ceppaie, devono rispondere ai seguenti requisiti:

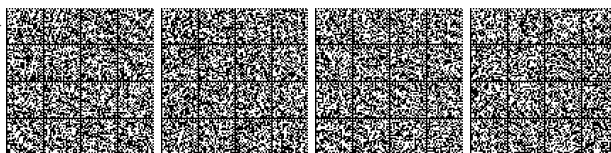
1. devono essere ubicati in aree dichiarate idonee dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio;
2. devono essere realizzati su terreni che rispondano ai normali requisiti di idoneità agronomica e sanitaria, esenti dai nematodi galligeni del genere *Meloidogyne* e dai funghi *V. dahliae*, *V. albo-atrum*, *N. galligena* oltre a *Armillaria mellea* e *Rosellinia necatrix* per le ceppaie; tale assenza deve essere documentata;
3. devono essere realizzati su terreni che non abbiano ospitato da almeno 5 anni altre specie arboree;
4. devono essere localizzati a distanza di almeno 100 metri da altre piante della stessa specie, salvo diverse prescrizioni più restrittive del Servizio fitosanitario regionale competente per territorio. Il Servizio fitosanitario regionale competente per territorio può autorizzare distanze di impianto inferiori, ma comunque non al di sotto di 30 metri;
5. l'impianto di piante madri da ceppaia, inoltre, deve essere realizzato su terreni esenti da *Agrobacterium tumefaciens*, tale assenza deve essere documentata;
6. devono avere una fascia di bordo di almeno 10 metri, su indicazione del Servizio fitosanitario regionale competente per territorio tali limiti possono essere ridotti qualora sia accertata l'assenza dei predetti nematodi nei campi limitrofi oppure siano approntate apposite barriere di protezione (fossati, scoline, ecc.);
7. devono essere isolati dall'afflusso di acque superficiali;
8. il sesto d'impianto deve essere tale da permettere l'esecuzione delle normali pratiche colturali e relativi controlli;
9. le piante devono essere numerate progressivamente in modo stabile in sito;
10. nel campo le file devono essere complete e distinte per accessione, qualora su una stessa fila venissero allevate accessioni diverse, è obbligatoria la loro separazione con interspazio doppio;
11. le piante madri porta marze (PMM) possono essere allevate al massimo per 20 anni dall'impianto;
12. le piante madri per portinnesti da ceppaia possono essere allevate al massimo per 20 anni dall'impianto;
13. gli impianti devono essere attivamente difesi al fine di contenere lo sviluppo di patogeni, parassiti ed infestanti;
14. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.

Vivai (Semenzai, Nestai e Piantonai e strutture per la radicazione e l'ambientamento)

1. I vivai di piante certificabili devono essere ubicati in aree dichiarate idonee, dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio;
2. l'impianto deve essere costituito in appezzamenti con terreni esenti da:
 - vi. *Agrobacterium tumefaciens*
 - vii. *Armillaria mellea*
 - viii. *Nectria galligena*
 - ix. *Rosellinia necatrix*
 - x. *Verticillium albo-atrum*
 - xi. *Verticillium dahliae*
 e dai nematodi galligeni del genere *Meloidogyne* tale assenza deve essere documentata;
3. realizzati su terreni che non abbiano ospitato da almeno 2 anni altre specie arboree;
4. l'impianto deve essere collocato ad almeno 10 m da altri frutteti;
5. distanti almeno 2 m dai vivai adiacenti realizzati con materiali di propagazione di altra categoria;
6. nel caso di piante allevate fuori suolo devono essere utilizzati contenitori di adeguato volume;
7. le piante allevate in contenitore devono essere isolate dal terreno con uno strato di
 - brecciolino o altro materiale inerte che assicuri comunque un efficiente drenaggio, dell'altezza minima di 10 cm; nel caso si utilizzino teli pacciamanti, l'altezza minima del vespaio si riduce a 5 cm;
 - battuto di cemento o altro materiale; in tal caso i contenitori devono essere collocati su supporti dell'altezza di almeno 20 cm;
8. nel caso i contenitori siano poggiati sul terreno, esso deve avere le caratteristiche di cui al precedente punto 2;
9. l'area destinata all'allevamento in contenitore deve essere isolata dall'afflusso di superficiali e contemplare una fascia di bordo, tenuta libera da vegetazione, di almeno 2 m;
10. gli impianti devono essere attivamente difesi al fine di contenere lo sviluppo di patogeni, parassiti ed infestanti;
11. le piante devono essere suddivise in lotti omogenei, ben individuabili, riportati su mappa;
12. le parcelle devono essere omogenee, ben individuabili e separate da altro materiale di categoria CAC da uno spazio di almeno 2 m;



13. il ciclo produttivo delle piante da certificare non deve superare i tre anni dalla messa a dimora;
14. il terreno deve essere isolato dall'afflusso delle acque superficiali e sub-superficiali;
15. le strutture per la radicazione e l'ambientamento, devono essere isolate dall'afflusso delle acque superficiali e sub-superficiali e non devono essere a diretto contatto con il suolo ma sollevati di almeno 10 cm;
16. prima dell'utilizzo il cassone deve essere trattato con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2% per almeno 20/30 minuti;
17. qualunque intervento cesorio, per ogni singolo lotto, deve essere eseguito con attrezzi precedentemente disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.



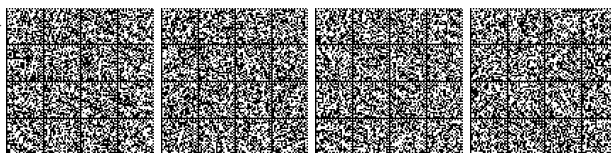
PARTE D

PRODUZIONE *IN VITRO*

DI MATERIALE DI CATEGORIA “PRE-BASE”, “BASE” E “CERTIFICATO”

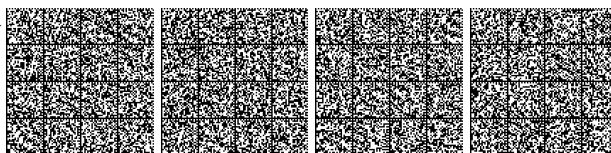
A. Produzione di materiale *in vitro* Categoria “Pre-Base” e “Base”

1. I prelievi iniziali degli espianti per la micropropagazione (moltiplicazione *in vitro* attraverso gemme ascellari) devono essere effettuati solo su individui coltivati presso i Centri di Conservazione per la Premoltiplicazione (CCP).
2. Le operazioni di prelievo e di trapianto (trasferimento su terreno di coltura fresco) devono essere annotate giornalmente su di un registro di prima nota e, settimanalmente, su apposito registro di carico e scarico, con pagine numerate progressivamente, non asportabili e vidimate dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio. Tale registro deve essere mantenuto costantemente nel laboratorio a disposizione di eventuali controlli. In detto registro sono annotati anche i contenitori eliminati per inquinamenti e o anomalie morfo-fisiologiche delle colture, oltre ai contenitori trasferiti in frigorifero. Il registro potrà contenere cancellature che devono essere effettuate con un tratto di penna che consenta la lettura di quanto scritto in precedenza.
3. Per la fase di Conservazione (“Pre-Base”) sono ammesse n° 8 subcolture e, complessivamente, eventuali periodi di frigoconservazione non dovranno superare i 12 mesi. In ogni caso il rinnovo del materiale in conservazione deve avvenire entro 2 anni dal prelievo dell'espianto iniziale. Dopo tale periodo si ripartirà con un nuovo prelievo di espianti dal CCP. Nella produzione di portainnesti e varietà di categoria “Pre-Base” si possono far seguire a questa fase una subcoltura di allungamento e una fase di radicazione.
4. Per la Premoltiplicazione (“Base”) sono ammesse n° 10 subcolture, mentre complessivamente eventuali periodi di frigoconservazione non dovranno superare i 12 mesi. In ogni caso il rinnovo del materiale in Premoltiplicazione deve avvenire entro 2 anni dall'utilizzo dell'espianto iniziale. Dopo tale periodo si ripartirà con un nuovo prelievo di espianti dal materiale *in vitro* “Pre-Base”.
5. Non è ammessa la micropropagazione di cloni chimerici per l'elevato rischio di non corrispondenza delle piante micropropagate al genotipo di partenza.
6. Non è consentito utilizzare sostanze con azione mutagena né sistemi di colture con organismi batterici per agevolare specifiche fasi.
7. Nel procedimento di moltiplicazione e/o radicazione i laboratori devono adottare le seguenti precauzioni:
 - eliminare i germogli eventualmente originatisi da tessuti indifferenziati (callo);
 - eliminare la parte basale del gruppo (*cluster*) di germogli al momento del trasferimento ove è più frequente la proliferazione di tessuto indifferenziato;
 - utilizzare solo germogli originati da gemme ascellari;
 - i terreni di coltura non devono indurre proliferazione superiore a 5 nuovi germogli/espianto iniziale per singola subcoltura o produrre abbondante formazione di callo;
 - eliminare le colture iperidriche e/o con altre anomalie morfo-fisiologiche.
8. I vasi di coltura devono essere mantenuti in un settore predeterminato e ben identificato del laboratorio e contrassegnati singolarmente, in modo da essere agevolmente identificabili, tramite etichette su cui riportare la data, il numero progressivo di subcoltura e la fase colturale: proliferazione, allungamento o radicazione.
9. Gli strumenti e le strutture utilizzate per la fase di ambientamento devono rispondere ai requisiti riportati nell'Allegato 2 del presente disciplinare.



B. Produzione di materiale Categoria “Certificato”

1. I laboratori devono richiedere al Centro di Premoltiplicazione *in vitro*, di cui nella parte A, il numero iniziale di germogli sterili per ogni genotipo (varietà o selezione). La consegna delle colture in attiva moltiplicazione da parte dei Centri di Premoltiplicazione avverrà entro 6 mesi dalla richiesta. Sarà possibile raggiungere nella moltiplicazione *in vitro* un massimo di 20 subcolture (anche se intercalate da un periodo di conservazione frigorifera). In fase di allungamento o di radicazione è ammesso un periodo di conservazione frigorifera, anche se ve ne è stato un altro in precedenza.
2. Gli espianti iniziali devono essere prelevati esclusivamente dalle piante madri di cui alla parte A e deve essere tenuta traccia del numero della/delle piante da cui il materiale è stato prelevato.
3. La durata complessiva delle subcolture di proliferazione e dei periodi di frigoconservazione nella fase di moltiplicazione non dovrà superare i 2 anni. Dopo tale periodo si ripartirà con nuovi germogli sterili richiesti al Centro di Premoltiplicazione *in vitro*.
4. Le operazioni di trapianto devono essere annotate giornalmente su di un registro di prima nota e, settimanalmente, su apposito registro di carico e scarico, con pagine numerate progressivamente, non asportabili e vidimate dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio. Tale registro deve essere mantenuto costantemente nel laboratorio a disposizione di eventuali controlli. In detto registro sono annotati anche i contenitori eliminati per inquinamenti e o anomalie morfo-fisiologiche delle colture, oltre ai contenitori trasferiti in frigorifero. Il registro potrà contenere cancellature che devono essere effettuate con un tratto di penna che consenta la lettura di quanto scritto in precedenza.
5. Non è consentito utilizzare sostanze con possibile azione mutagena né sistemi di colture con organismi batterici per agevolare specifiche fasi.
6. Nel procedimento di moltiplicazione e/o radicazione, i laboratori devono adottare le seguenti precauzioni:
 - i terreni di coltura non devono indurre proliferazione superiore a 5 nuovi germogli/per espianto iniziale per singola subcoltura o produrre abbondante formazione di callo;
 - eliminare i germogli eventualmente originatisi da tessuti indifferenziati (callo);
 - eliminare la parte basale del gruppo (*cluster*) di germogli al momento del trapianto ove è più frequente la proliferazione di tessuto indifferenziato;
 - utilizzare solo germogli originati da gemme ascellari;
 - eliminare le colture iperidriche e/o con altre anomalie morfofisiologiche.
7. I vasi di coltura devono essere mantenuti in un settore predeterminato e ben identificato del laboratorio e contrassegnati singolarmente, in modo da essere agevolmente identificabili, tramite etichette su cui riportare la data, il numero progressivo di subcoltura e la fase culturale: proliferazione, allungamento o radicazione.
8. Gli strumenti e le strutture utilizzate per la fase di ambientamento devono rispondere ai requisiti riportati nell’Allegato 2 del presente disciplinare.



PARTE E

CONTROLLI FITOSANITARI

A. Materiale di categoria “Pre-Base”, “Base” e “Certificato”**Virus, batteri, fitoplasmi e funghi**

Sono previsti due tipi di controlli:

1. visivi da effettuarsi:
 - in primavera, per le malattie da virus;
 - nel periodo estivo per le malattie da viroidi e da fitoplasmi;
 - in concomitanza con il periodo di massima espressione sintomatologica, per le malattie da funghi e batteri;
2. saggi di laboratorio eseguiti secondo i protocolli indicati nella tabella 1 e 2 del presente allegato.

B. Terreno e substrati impiegati in ogni fase

Funghi: *Armillaria mellea*, *Rosellinia necatrix*, *Nectria galligena*, *Verticillium dahliae* e *V. albo-atrum*.

Saggi diagnostici: da eseguirsi sui terreni e substrati mediante tecniche di isolamento classiche.

Modalità di campionamento:

- substrati: sarà prelevato un campione ogni 5 m³, costituito da 10 subcampioni;
- terreno: prima dell’impianto e prima di qualsiasi lavorazione profonda, saranno prelevati 5 campioni per ettaro ciascuno costituito da 10 subcampioni per un peso complessivo di 1 Kg.

Batteri: *Agrobacterium tumefaciens*

Saggi diagnostici: da eseguirsi sui terreni e substrati mediante tecniche di isolamento, estrazione ed analisi classiche.

Modalità di campionamento:

- substrati: sarà prelevato un campione ogni 5 m³, costituito da 10 subcampioni;
- terreno: prima dell’impianto e prima di qualsiasi lavorazione profonda, saranno prelevati 5 campioni per ettaro ciascuno costituito da 10 subcampioni per un peso complessivo di 1 Kg.

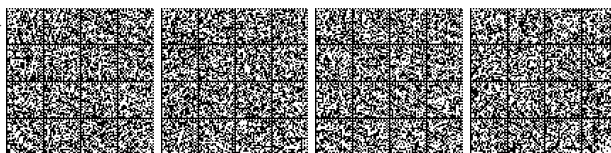
Nematodi: *Melodogyne spp.*

Saggi diagnostici: da eseguirsi sui terreni e substrati mediante tecniche di isolamento classiche.

Modalità di campionamento:

- substrati: sarà prelevato un campione ogni 5 m³, costituito da 10 subcampioni;
- terreno: prima dell’impianto e prima di qualsiasi lavorazione profonda, saranno prelevati 5 campioni per ettaro ciascuno costituito da 10 subcampioni per un peso complessivo di 1 Kg.

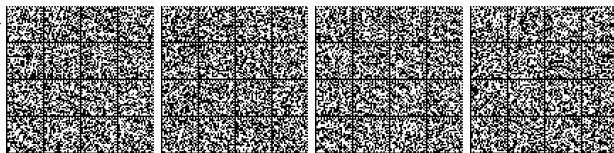
* solo per terreni e substrati utilizzati nella fase di produzione delle piante categoria “certificato” per le Piantine madri portinnesti da ceppaia e nei vivai.



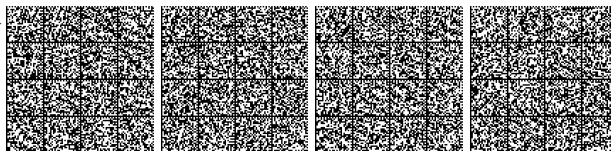
Procedure per la verifica delle Piante Madri da ceppaia e Portamarze (PMM) di categoria "Pre-Base" e "Base"

Controlli fitosanitari

Organismo nocivo / Malattia	Acronimo	Osservazioni visive		Saggi biologici / Saggi di laboratorio sierologico	
		Epoca	Periodicità	Periodicità	Epoca, tipo di campione e Test
Tutte le categorie					
Acari					
<i>Phytoptus avellanae</i>		Primavera-Estate	Annuale		
Funghi					
<i>Nectria galligena</i>					
<i>Verticillium dahliae</i>		Primavera-Estate	annuale		
<i>Verticillium albo-atrum</i>					
<i>Armillariella mellea</i>					
<i>Rosellinia necatrix</i>		All'espianto			
Batteri					
<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>corylina</i>					
<i>Pseudomonas avellanae</i>		Primavera-Estate	annuale		
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>avellanae</i>					
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>		All'espianto			

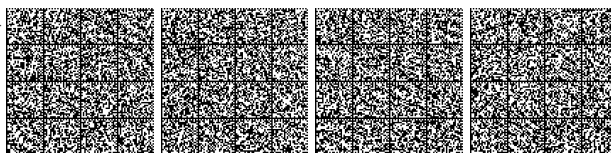


Virus						
<i>Apple mosaic virus</i>	ApMV	Primavera	annuale	A partire dal 5° anno ogni 3 anni sul 5% delle piante	Primavera, foglie, Test ELISA	
Fitoplasm						
<i>Hazelnut maculatura lineare phytoplasma</i>	HLM	Estate	annuale			

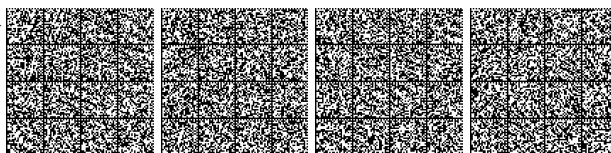


Procedure per la verifica delle Piante Madri da ceppaia e Portamarze (PMM) di categoria "CERTIFICATO"
 Nocciolo (*Corylus avellana* L.)

Organismo nocivo / Malattia	Acronimo	Osservazioni visive		Saggi biologici / Saggi di laboratorio sierologico	
Tutte le categorie					
Acari					
<i>Phytoptus avellanae</i>		Primavera-Estate	annuale		
Funghi					
<i>Armillariella mellea</i>					
<i>Verticillium dahliae</i>		Primavera-Estate	annuale		
<i>Verticillium albo-atrum</i>					
<i>Nectria galligena</i>					
<i>Rosellinia necatrix</i>		All'espanto			
Batteri					
<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>corylina</i>					
<i>Pseudomonas avellanae</i>		Primavera-Estate	annuale		
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>avellanae</i>					



<i>Agrobacterium tumefaciens</i>		All'espanto			
Virus					
<i>Apple mosaic virus</i>	ApMV	Primavera	annuale		
Fitoplasm					
<i>Hazelnut maculatura lineare phytoplasma</i>	HLM	Estate	annuale		



PARTE F

CONTROLLI DI CORRISPONDENZA VARIETALE O SELEZIONE CLONALE

La certificazione di corrispondenza genetica è basata su osservazioni pomologiche ed agronomiche. Può essere effettuata anche con il supporto di tecniche molecolari qualora la fonte primaria immessa nei canali della certificazione nazionale sia stata corredata di idonea documentazione molecolare.

A. Controlli sul materiale di “Pre-Base” e di “Base”

Per le cultivar e per i cloni del genere *Corylus* destinati alla produzione dei frutti, la certificazione di corrispondenza varietale potrà essere rilasciata solo dopo:

- aver osservato almeno una fruttificazione, oppure
- aver effettuato analisi del DNA mediante l’impiego di marcatori molecolari microsatelliti (SSR) utilizzando almeno 20 coppie di primer, fornite dal costituente in grado di distinguere la varietà o il clone, a seconda che si tratti della registrazione di una varietà o di un nuovo clone; oppure analisi del DNA mediante una o più tecniche ritenute appropriate, secondo le modalità fornite dal costituente (RAPD, RFLP, AFLP ecc.).

La certificazione di corrispondenza genetica per i portainnesti clonali potrà essere rilasciata solo dopo:

- avere effettuato almeno due cicli vegetativi annuali di propagazione in vivaio ed averne verificato la corrispondenza al fenotipo, oppure
- la rispondenza potrà essere verificata attraverso analisi del DNA mediante l’impiego di marcatori molecolari microsatelliti (SSR) utilizzando almeno 20 coppie di primer, fornite dal costituente in grado di distinguere la varietà o il clone, a seconda che si tratti della registrazione di una varietà o di un nuovo clone; oppure analisi del DNA mediante una o più tecniche ritenute appropriate, secondo le modalità fornite dal costituente (RAPD, RFLP, AFLP ecc.).

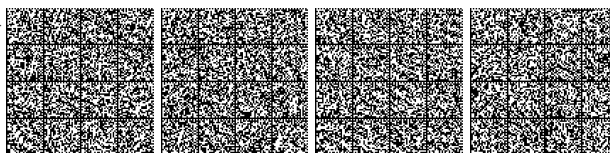
Nel caso di verifica di rispondenza genetica per chiave morfologica, nei primi uno-due anni di fioritura e di fruttificazione andranno effettuati, e ripetuti ogni anno in tutti i suddetti tipi di materiale, almeno due controlli durante il ciclo vegetativo, in corrispondenza delle seguenti fasi fenologiche:

- fioritura
- epoca di raccolta dei frutti.

B. Controlli sulle Pianta Madri “Certificate”

Prima di poter procedere al prelievo di materiale certificato il Servizio fitosanitario regionale competente dovrà attestare la corrispondenza varietale su tutte le piante dopo:

- avere osservato almeno una fruttificazione, oppure
- aver effettuato analisi del DNA mediante l’impiego di marcatori molecolari microsatelliti (SSR) utilizzando almeno 20 coppie di primer, fornite dal costituente in grado di distinguere la varietà o il clone, a seconda che si tratti della registrazione di una varietà o di un nuovo clone; oppure analisi del DNA mediante una o più tecniche ritenute appropriate, secondo le modalità fornite dal costituente (RAPD, RFLP, AFLP ecc.).

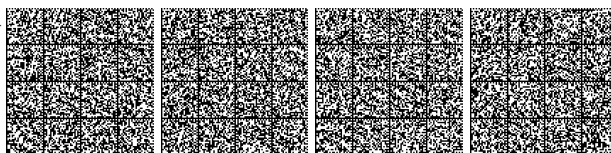


CAPO VII - NOCE

PARTE A

MALATTIE E ORGANISMI NOCIVI DI CUI DEVE ESSERE ACCERTATA L'ASSENZA NELLE PIANTE MADRI DI CATEGORIA "PRE-BASE" E DEL MATERIALE DI CATEGORIA "PREBASE", "BASE" E "CERTIFICATO" E RELATIVI SAGGI

Agente eziologico/malattia	Acronimo	Saggi Biologici (indicatori legnosi)		Test microscopici/sierologici	Test biomolecolari
Virus					
Accartocciamento fogliare del ciliegio <i>Cherry leaf roll virus</i>	CLRV			- ELISA	RT PCR Real time PCR
Batteri					
Tumore batterico <i>Agrobacterium tumefaciens</i>				- Isolamento	- PCR
Mal secco del noce <i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>juglandis</i>				- Isolamento	- PCR
Funghi					
Marciume radicale fibroso <i>(Armillariella mellea)</i>				- Isolamento	- PCR
Mal del piombo <i>Chondrostereum purpureum</i>				- Isolamento	- PCR
Cancri rameali <i>(Nectria galligena)</i>				- Isolamento	- PCR
Marciume del colletto <i>Phytophthora cactorum</i>				- Isolamento	- PCR



PARTE B
MEZZI NECESSARI ALLA CONDUZIONE ED ALLA PRODUZIONE *IN VIVO*
DEI MATERIALI DI CATEGORIA “PRE-BASE” E “BASE”

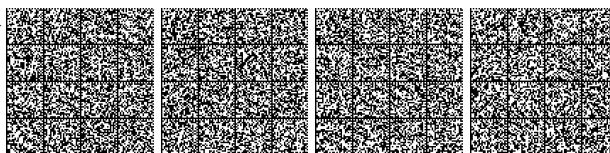
Strutture

Le Fasi di Conservazione e di Premoltiplicazione devono essere effettuate in serre a rete a prova d'insetti (screen house). Le serre devono avere dimensioni tali da soddisfare lo sviluppo previsto in funzione del volume dei contenitori utilizzati e devono rispondere ai seguenti requisiti:

1. essere realizzate a tetto rigido e con pareti con una doppia rete con maglia 20/10 (20 fili/cm in ordito e 10 fili/cm in trama) e provviste di vestibolo con pareti con doppia rete e con doppia porta.
2. essere isolate dall'afflusso delle acque superficiali mediante un cordolo o altri manufatti che assicurino l'isolamento, dichiarati idonei dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio;
3. essere provviste di un vespaio perimetrale di almeno 80 cm di larghezza e di profondità superiore di almeno 20 cm rispetto a quello interno;
4. la pavimentazione deve garantire il completo isolamento tra i contenitori e il terreno o con il piano di calpestio che può essere realizzato
 - con adeguato vespaio rifinito con brecciolino o altro materiale inerte che assicuri un efficiente drenaggio;
 - con battuto di cemento o altro materiale. In tal caso i contenitori, i cassoni per i semenzai e i bancali di ambientamento devono essere opportunamente distanziati dal piano di calpestio utilizzando appositi supporti di almeno 20 cm di altezza;
5. piante appartenenti a livelli qualitativi diversi possono essere allevate nella stessa screen house purché separate da doppia rete.

Allevamento e produzione

1. Il materiale di “Pre-Base” deve essere conservato e moltiplicato in screen house e deve essere allevato in contenitori di adeguato volume;
2. il materiale di “Base” deve essere conservato e moltiplicato in screen house e deve essere allevato in contenitori di adeguato volume oppure in pieno campo ad almeno 100 metri di distanza da altre piante di nocciolo di qualsiasi tipo.
3. le piante devono essere numerate progressivamente in modo stabile in sito al momento dell'introduzione;
4. il terriccio o substrato utilizzato deve essere esente dai Funghi: *Armillariella mellea*, *Nectria galligena*, *Chondrostereum purpureum*, *Phytophthora cactorum* e dal nematode vettore di virus *Xiphinema diversicaudatum*; tale esenzione deve essere documentata;
5. le piante madri di “Base” possono essere allevate per un massimo di 30 anni dall'immissione in screen house, salvo diversa prescrizione del Servizio fitosanitario regionale competente per territorio;
6. Una pianta madre di base, può essere moltiplicata al massimo per due generazioni.
7. i contenitori, i cassoni utilizzati per la radicazione, per l'ambientamento e per i semenzai devono essere sollevati di almeno 20 cm dal piano di calpestio;
8. prima dell'utilizzo i cassoni per la radicazione, per l'ambientamento e per i semenzai devono essere trattati con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2% per almeno 20/30 minuti;
9. ogni cessione di materiale da parte del Centro di Premoltiplicazione (CP) deve essere registrata tempestivamente nell'apposito registro;
10. tutte le operazioni sono registrate nell'apposito Registro di conduzione;
11. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.



PARTE C

MEZZI NECESSARI ALLA CONDUZIONE DELLE PIANTE MADRI ED ALLA
PRODUZIONE *IN VIVO* DEI MATERIALI DI CATEGORIA “CERTIFICATO”**Parte A - Campi di Piante Madri**

I campi di piante madri certificate, portamarze e da seme, devono rispondere ai seguenti requisiti:

1. devono essere ubicati in aree dichiarate idonee dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio;
2. devono essere realizzati su terreni che rispondano ai normali requisiti di idoneità agronomica e sanitaria, esente dal nematode vettore *Xiphinema diversicaudatum* e dai funghi *Armillariella mellea*, *N. galligena*, *Chondrostereum purpureum*, *Phytophthora cactorum*; tale assenza deve essere documentata;
3. devono essere realizzati su terreni che non abbiano ospitato da almeno 5 anni altre specie arboree;
4. devono essere localizzati a distanza di almeno 100 metri da altre piante della stessa specie, salvo diverse prescrizioni più restrittive del Servizio fitosanitario regionale competente per territorio. Il Servizio fitosanitario regionale competente per territorio può autorizzare distanze di impianto inferiori, ma comunque non al di sotto di 30 metri;
5. devono avere una fascia di bordo di almeno 10 metri, su indicazione del Servizio fitosanitario regionale competente per territorio tali limiti possono essere ridotti qualora sia accertata l'assenza dei predetti nematodi nei campi limitrofi oppure siano approntate apposite barriere di protezione (fossati, scoline, ecc.);
6. devono essere isolati dall'afflusso di acque superficiali;
7. il sesto d'impianto deve essere tale da permettere l'esecuzione delle normali pratiche colturali e relativi controlli;
8. le piante devono essere numerate progressivamente in modo stabile in sito;
9. nel campo le file devono essere complete e distinte per accessione, qualora su una stessa fila venissero allevate accessioni diverse, è obbligatoria la loro separazione con interspazio doppio;
10. le piante madri porta marze (PMM) possono essere allevate al massimo per 20 anni dall'impianto;
11. le piante madri porta seme (PMS) possono essere allevate al massimo per 30 anni dall'impianto;
12. gli impianti devono essere attivamente difesi al fine di contenere lo sviluppo di patogeni, parassiti ed infestanti;
13. qualunque intervento cesorio deve essere eseguito con attrezzi disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.

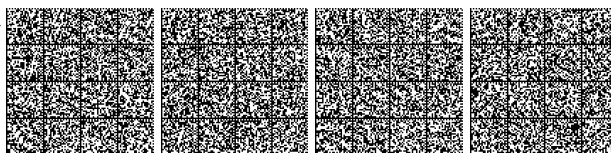
Parte B - Vivai (Semenzai, Nestai e Piantonai e strutture per la radicazione e l'ambientamento)

1. I vivai di piante certificabili devono essere ubicati in aree dichiarate idonee, dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio;
2. l'impianto deve essere costituito in appezzamenti con terreni esenti da:
Agrobacterium tumefaciens, *Xanthomonas arboricola* pv. *luglandis*, *Armillaria mellea*, *Nectria galligena*, *Chondrostereum purpureum*, *Phytophthora cactorum*

e dai nematodi: *Xiphinema diversicaudatum*, *Pratylenchus vulnus*; *Pratylenchus penetrans*; *Meloidogyne incognita*; *Meloidogyne javanica*; *Meloidogyne arenaria*; *Meloidogyne hapla*; *Cricodemella xenoplax*; *Cacopaurus pestis*; tale assenza deve essere documentata;
3. realizzati su terreni che non abbiano ospitato da almeno 2 anni altre specie arboree;
4. l'impianto deve essere collocato ad almeno 10 m da altri frutteti;
5. distanti almeno 2 m dai vivai adiacenti realizzati con materiali di propagazione di altra categoria;
6. nel caso di piante allevate fuori suolo devono essere utilizzati contenitori di adeguato volume;
7. le piante allevate in contenitore devono essere isolate dal terreno con uno strato di
 - brecciolino o altro materiale inerte che assicuri comunque un efficiente drenaggio, dell'altezza minima di 10 cm; nel caso si utilizzino teli pacciamanti, l'altezza minima del vespaio si riduce a 5 cm;
 - battuto di cemento o altro materiale; in tal caso i contenitori devono essere collocati su supporti dell'altezza di almeno 20 cm;
8. nel caso i contenitori siano poggiati sul terreno, esso deve avere le caratteristiche di cui al precedente punto 2;
9. l'area destinata all'allevamento in contenitore deve essere isolata dall'afflusso di superficiali e contemplare una fascia di bordo, tenuta libera da vegetazione, di almeno 2 m;
10. gli impianti devono essere attivamente difesi al fine di contenere lo sviluppo di patogeni, parassiti ed infestanti;
11. le piante devono essere suddivise in lotti omogenei, ben individuabili, riportati su mappa;
12. le parcelle devono essere omogenee, ben individuabili e separate da altro materiale di categoria CAC da uno spazio di almeno 2 m;
13. il ciclo produttivo delle piante da certificare non deve superare i tre anni dalla messa a dimora;
14. il terreno deve essere isolato dall'afflusso delle acque superficiali e sub-superficiali;



15. le strutture per la radicazione e l'ambientamento, devono essere isolate dall'afflusso delle acque superficiali e sub-superficiali e non devono essere a diretto contatto con il suolo ma sollevati di almeno 10 cm;
16. prima dell'utilizzo il cassone deve essere trattato con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2% per almeno 20/30 minuti;
17. qualunque intervento cesorio, per ogni singolo lotto, deve essere eseguito con attrezzi precedentemente disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo.



PARTE D

PRODUZIONE *IN VITRO*

DI MATERIALE DI CATEGORIA “PRE-BASE”, “BASE” E “CERTIFICATO”

A. Produzione di materiale *in vitro* Categoria “Pre-Base” e “Base”

I prelievi iniziali degli espianti per la micropropagazione (moltiplicazione *in vitro* attraverso gemme ascellari) devono essere effettuati solo su individui coltivati presso i Centri di Conservazione per la Premoltiplicazione (CCP).

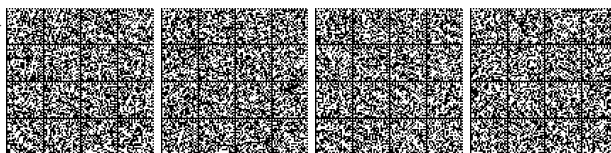
1. Le operazioni di prelievo e di trapianto (trasferimento su terreno di coltura fresco) devono essere annotate giornalmente su di un registro di prima nota e, settimanalmente, su apposito registro di carico e scarico, con pagine numerate progressivamente, non asportabili e vidimate dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio. Tale registro deve essere mantenuto costantemente nel laboratorio a disposizione di eventuali controlli. In detto registro sono annotati anche i contenitori eliminati per inquinamenti e o anomalie morfo-fisiologiche delle colture, oltre ai contenitori trasferiti in frigorifero. Il registro potrà contenere cancellature che devono essere effettuate con un tratto di penna che consenta la lettura di quanto scritto in precedenza.
2. Per la fase di Conservazione (“Pre-Base”) sono ammesse n° 8 subcolture e, complessivamente, eventuali periodi di frigoconservazione non dovranno superare i 12 mesi. In ogni caso il rinnovo del materiale in conservazione deve avvenire entro 2 anni dal prelievo dell’espianto iniziale. Dopo tale periodo si ripartirà con un nuovo prelievo di espianti dal CCP. Nella produzione di portainnesti e varietà di categoria “Pre-Base” si possono far seguire a questa fase una subcoltura di allungamento e una fase di radicazione.
3. Per la Premoltiplicazione (“Base”) sono ammesse n° 10 subcolture, mentre complessivamente eventuali periodi di frigoconservazione non dovranno superare i 12 mesi. In ogni caso il rinnovo del materiale in Premoltiplicazione deve avvenire entro 2 anni dall’utilizzo dell’espianto iniziale. Dopo tale periodo si ripartirà con un nuovo prelievo di espianti dal materiale *in vitro* “Pre-Base”.
4. Non è ammessa la micropropagazione di cloni chimerici per l’elevato rischio di non corrispondenza delle piante micropropagate al genotipo di partenza.
5. Non è consentito utilizzare sostanze con azione mutagena né sistemi di colture con organismi batterici per agevolare specifiche fasi.
6. Nel procedimento di moltiplicazione e/o radicazione i laboratori devono adottare le seguenti precauzioni:
 - eliminare i germogli eventualmente originatisi da tessuti indifferenziati (callo);
 - eliminare la parte basale del gruppo (*cluster*) di germogli al momento del trasferimento ove è più frequente la proliferazione di tessuto indifferenziato;
 - utilizzare solo germogli originati da gemme ascellari;
 - i terreni di coltura non devono indurre proliferazione superiore a 5 nuovi germogli/espianto iniziale per singola subcoltura o produrre abbondante formazione di callo;
 - eliminare le colture iperidriche e/o con altre anomalie morfo-fisiologiche.
7. I vasi di coltura devono essere mantenuti in un settore predeterminato e ben identificato del laboratorio e contrassegnati singolarmente, in modo da essere agevolmente identificabili, tramite etichette su cui riportare la data, il numero progressivo di subcoltura e la fase colturale: proliferazione, allungamento o radicazione.
8. Gli strumenti e le strutture utilizzate per la fase di ambientamento devono rispondere ai requisiti riportati nell’Allegato 2 del presente disciplinare.

B. Produzione di materiale Categoria “Certificato”

1. I laboratori devono richiedere al Centro di Premoltiplicazione *in vitro*, di cui nella parte A, il numero iniziale di germogli sterili per ogni genotipo (varietà o selezione). La consegna delle colture in attiva moltiplicazione da parte dei Centri di Premoltiplicazione avverrà entro 6 mesi dalla richiesta. Sarà possibile raggiungere nella moltiplicazione *in vitro* un massimo di 20 subcolture (anche se intercalate da un periodo di conservazione frigorifera). In fase di allungamento o di radicazione è ammesso un periodo di conservazione frigorifera, anche se ne è stato un altro in precedenza.
2. Gli espianti iniziali devono essere prelevati esclusivamente dalle piante madri di cui alla parte A e deve essere tenuta traccia del numero della/delle piante da cui il materiale è stato prelevato.
3. La durata complessiva delle subcolture di proliferazione e dei periodi di frigoconservazione nella fase di moltiplicazione non dovrà superare i 2 anni. Dopo tale periodo si ripartirà con nuovi germogli sterili richiesti al Centro di Premoltiplicazione *in vitro*.



4. Le operazioni di trapianto devono essere annotate giornalmente su di un registro di prima nota e, settimanalmente, su apposito registro di carico e scarico, con pagine numerate progressivamente, non asportabili e vidimate dal Servizio fitosanitario regionale competente per territorio. Tale registro deve essere mantenuto costantemente nel laboratorio a disposizione di eventuali controlli. In detto registro sono annotati anche i contenitori eliminati per inquinamenti e o anomalie morfo-fisiologiche delle colture, oltre ai contenitori trasferiti in frigorifero. Il registro potrà contenere cancellature che devono essere effettuate con un tratto di penna che consenta la lettura di quanto scritto in precedenza.
5. Non è consentito utilizzare sostanze con possibile azione mutagena né sistemi di colture con organismi batterici per agevolare specifiche fasi.
6. Nel procedimento di moltiplicazione e/o radicazione, i laboratori devono adottare le seguenti precauzioni:
 - i terreni di coltura non devono indurre proliferazione superiore a 5 nuovi germogli/per espianto iniziale per singola subcoltura o produrre abbondante formazione di callo;
 - eliminare i germogli eventualmente originatisi da tessuti indifferenziati (callo);
 - eliminare la parte basale del gruppo (*cluster*) di germogli al momento del trapianto ove è più frequente la proliferazione di tessuto indifferenziato;
 - utilizzare solo germogli originati da gemme ascellari;
 - eliminare le colture iperidriche e/o con altre anomalie morfofisiologiche.
7. I vasi di coltura devono essere mantenuti in un settore predeterminato e ben identificato del laboratorio e contrassegnati singolarmente, in modo da essere agevolmente identificabili, tramite etichette su cui riportare la data, il numero progressivo di subcoltura e la fase colturale: proliferazione, allungamento o radicazione.
8. Gli strumenti e le strutture utilizzate per la fase di ambientamento devono rispondere ai requisiti riportati nell'Allegato 2 del presente disciplinare.



PARTE E

CONTROLLI FITOSANITARI

A. Materiale di categoria “Pre-Base”, “Base” e “Certificato”**Virus, batteri, fitoplasmi e funghi**

Sono previsti due tipi di controlli:

1. visivi da effettuarsi:
 - a. in primavera, per le malattie da virus;
 - b. nel periodo estivo per le malattie da viroidi e da fitoplasmi;
 - c. in concomitanza con il periodo di massima espressione sintomatologica, per le malattie da funghi e batteri;
2. saggi di laboratorio eseguiti secondo i protocolli indicati nella tabella 1 e 2 del presente allegato.

B. Terreno e substrati impiegati in ogni fase

Funghi: *Armillaria mellea*, *Nectria galligena*, *Phytophthora cactorum*

Chondrostereum purpureum

Saggi diagnostici: da eseguirsi sui terreni e substrati mediante tecniche di isolamento classiche.

Modalità di campionamento:

- substrati: sarà prelevato un campione ogni 5 m³, costituito da 10 subcampioni;
- terreno: prima dell’impianto e prima di qualsiasi lavorazione profonda, saranno prelevati 5 campioni per ettaro ciascuno costituito da 10 subcampioni per un peso complessivo di 1 Kg.

Nematodi: *Xiphinema diversicaudatum*.

Saggi diagnostici: da eseguirsi sui terreni e substrati mediante tecniche di isolamento classiche.

Modalità di campionamento:

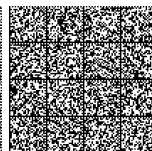
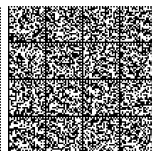
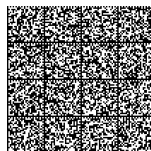
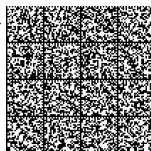
- substrati: sarà prelevato un campione ogni 5 m³, costituito da 10 subcampioni;
- terreno: prima dell’impianto e prima di qualsiasi lavorazione profonda, saranno prelevati 5 campioni per ettaro ciascuno costituito da 10 subcampioni per un peso complessivo di 1 Kg

Batteri: *Agrobacterium tumefaciens*, *Xanthomonas arboricola pv. Juglandis*

Saggi diagnostici: da eseguirsi sui terreni e substrati mediante tecniche di isolamento, estrazione ed analisi classiche.

Modalità di campionamento:

- substrati: sarà prelevato un campione ogni 5 m³, costituito da 10 subcampioni;
- terreno: prima dell’impianto e prima di qualsiasi lavorazione profonda, saranno prelevati 5 campioni per ettaro ciascuno costituito da 10 subcampioni per un peso complessivo di 1 Kg.



Il terreno dei vivai deve essere altresì analizzato e trovato libero dai seguenti nematodi

- i. *Pratylenchus vulnus*;
- ii. *Pratylenchus penetrans*;
- iii. *Meloidogyne incognita*;
- iv. *Meloidogyne javanica*;
- v. *Meloidogyne arenaria*;
- vi. *Meloidogyne hapla*;
- vii. *Cricemella xenoplax*;
- viii. *Cacopaurus pestis*.

Modalità di campionamento

Prima dell’impianto e prima di qualsiasi lavorazione profonda, saranno prelevati 5 campioni per ettaro ciascuno costituito da 10 subcampioni per un peso complessivo di 1 Kg.

In caso di accertata presenza dei nematodi sopraelencati, il terreno deve essere disinfestato secondo idonei interventi.
L’efficacia dell’intervento eseguito, deve essere confermata da un’ulteriore analisi nematologica effettuata prima del possibile utilizzo dello stesso.

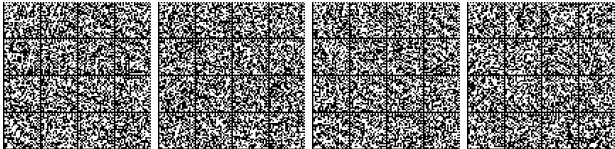
PARTE F

Procedure per la verifica delle Piante Madri da ceppaia e Portamarze (PMM) di categoria “Pre-Base” e “Base”

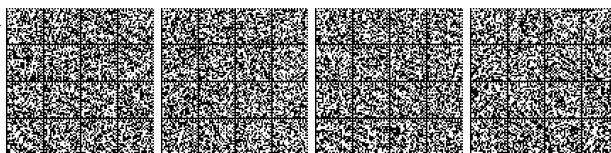
Noce (*Juglans regia* L.)

Controlli fitosanitari

Organismo nocivo / Malattia	Acronimo	Osservazioni visive		Saggi biologici / Saggi di laboratorio sierologico	
		Epoca	Periodicità	Periodicità	Epoca, tipo di campione e Test
Tutte le categorie					
Funghi					
<i>Nectria galligena</i>		Primavera-Estate	annuale		
<i>Armillariella mellea</i>		All'espianto			
<i>Chondrostereum purpureum</i>					



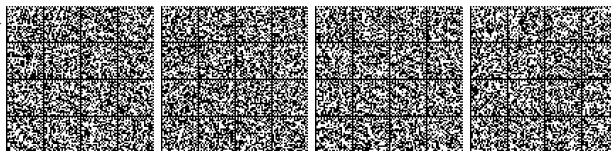
<i>Phytophthora cactorum</i>						
Batteri						
<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>Juglandis</i>		annuale	Primavera-Estate			
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>			All'espanto			
Virus						
<i>Apple mosaic virus</i>	ApMV	annuale	Primavera		A partire dal 5° anno ogni 3 anni sul 5% delle piante	Primavera, foglie, Test ELISA



Procedure per la verifica delle Piante Madri da ceppaia e Portamarze (PMM) di categoria "CERTIFICATO"

Noce (*Juglans regia* L.)

Organismo nocivo / Malattia	Acronimo	Osservazioni visive		Saggi biologici / Saggi di laboratorio sierologico	
		Epoca	Periodicità	Periodicità	Epoca, tipo di campione e Test
Tutte le categorie					
Funghi					
<i>Nectria galligena</i>		Primavera-Estate	annuale		
<i>Armillariella mellea</i>		All'espanto			
<i>Chondrostereum purpureum</i> <i>Phytophthora cactorum</i>					
Batteri					
<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>Juglandis</i>		Primavera-Estate	annuale		
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>		All'espanto			
Virus					
<i>Apple mosaic virus</i>	ApMV	Primavera	annuale		



PARTE G

CONTROLLI DI CORRISPONDENZA VARIETALE O SELEZIONE CLONALE

La certificazione di corrispondenza genetica è basata su osservazioni pomologiche ed agronomiche. Può essere effettuata anche con il supporto di tecniche molecolari qualora la fonte primaria immessa nei canali della certificazione nazionale sia stata corredata da idonea documentazione molecolare.

A. Controlli sul materiale di “Pre-Base” e di “Base”

Per le cultivar e per i cloni del genere *Juglans* destinati alla produzione dei frutti, la certificazione di corrispondenza varietale potrà essere rilasciata solo dopo:

- aver osservato almeno una fruttificazione, oppure
- aver effettuato analisi del DNA mediante l’impiego di marcatori molecolari microsatelliti (SSR) utilizzando almeno 20 coppie di primer, fornite dal costituente in grado di distinguere la varietà o il clone, a seconda che si tratti della registrazione di una varietà o di un nuovo clone; oppure analisi del DNA mediante una o più tecniche ritenute appropriate, secondo le modalità fornite dal costituente (RAPD, RFLP, AFLP ecc.).

La certificazione di corrispondenza genetica per i portainnesti clonali potrà essere rilasciata solo dopo:

- avere effettuato almeno due cicli vegetativi annuali di propagazione in vivaio ed averne verificato la corrispondenza al fenotipo, oppure
- la rispondenza potrà essere verificata attraverso analisi del DNA mediante l’impiego di marcatori molecolari microsatelliti (SSR) utilizzando almeno 20 coppie di primer, fornite dal costituente in grado di distinguere la varietà o il clone, a seconda che si tratti della registrazione di una varietà o di un nuovo clone; oppure analisi del DNA mediante una o più tecniche ritenute appropriate, secondo le modalità fornite dal costituente (RAPD, RFLP, AFLP ecc.).

Nel caso di verifica di rispondenza genetica per chiave morfologica, nei primi uno-due anni di fioritura e di fruttificazione andranno effettuati, e ripetuti ogni anno in tutti i suddetti tipi di materiale, almeno due controlli durante il ciclo vegetativo, in corrispondenza delle seguenti fasi fenologiche:

- fioritura
- epoca di raccolta dei frutti.

B. Controlli sulle Piante Madri “Certificate”

Prima di poter procedere al prelievo di materiale certificato il Servizio fitosanitario regionale competente dovrà attestare la corrispondenza varietale su tutte le piante dopo:

- avere osservato almeno una fruttificazione, oppure
- aver effettuato analisi del DNA mediante l’impiego di marcatori molecolari microsatelliti (SSR) utilizzando almeno 20 coppie di primer, fornite dal costituente in grado di distinguere la varietà o il clone, a seconda che si tratti della registrazione di una varietà o di un nuovo clone; oppure analisi del DNA mediante una o più tecniche ritenute appropriate, secondo le modalità fornite dal costituente (RAPD, RFLP, AFLP ecc.).

