

ВОДИЧ ЗА СПРОВОЂЕЊЕ ПОСЕБНОГ НАДЗОРА НАД КАРАНТИНСКОМ БАКТЕРИЈОМ

Xylella fastidiosa

Увод

Овај документ има за циљ да:

- идентификује кључне елементе процене ризика које треба узети у разматрање приликом спровођења посебног надзора;
- оквирно одреди биљне врсте које су од посебног значаја за могуће уношење и ширење *X. fastidiosa*;
- постигне заједнички приступ методологији спровођења посебног надзора;
- да оквирну слику начина прикупљања информација.

Xylella fastidiosa је једна од најштетнијих фитопатогених бактерија у свету.

У циљу спречавања уношења и раног откривања карантинске бактерије *Xylella fastidiosa* на територији Републике Србије, донети су:

- Правилник о мерама за откривање, спречавање ширења и сузбијање штетног организма *Xylella fastidiosa* (Wells et al.), начину одређивања граница зараженог, угроженог и подручја без штетних организама, условима за окончање наложених мера, као и начину обавештавања о предузетим мерама („Службени гласник РС”, број 31/16);
- Правилник о утврђивању Програма мера заштите здравља биља за 2016. годину („Службени гласник РС”, број 31/16).

І НОСИОЦИ ПОСЕБНОГ НАДЗОРА

У складу са Програмом мера заштите здравља биља за 2016. годину на територији Републике Србије, посебан надзор на присуство *X. fastidiosa* у организацији Управе за заштиту биља - МПЗЖС, у сарадњи са Управом за шуме, спроводе:

А. Пољопривредни факултет Универзитета у Београду - носилац посебног надзора на присуство *X. fastidiosa*.

Пољопривредни факултет Универзитета у Београду врши:

- лабораторијско тестирање узорака;
- посебан надзор над векторима;
- едукације и тренинге.

Овлашћени истраживач - проф. др Алекса Обрадовић

Контакт: aleksao@agrif.bg.ac.rs

Б. Овлашћене Пољопривредне стручне службе (29) - врше визуелне прегледе и узорковање биља на присуство *X. fastidiosa* у складу са овим документом:

- 1) свих посткарантинских објеката из претходних година (уназад три године);
- 2) током обављања здравствених прегледа садног материјала воћака, винове лозе и хмеља;
- 3) током обављања здравствених прегледа пошиљака биља намењених извозу;
- 4) током обављања прогнозно-извештајних послова.

Узорковање обављати у складу са овим документом у сарадњи са координаторима Програма мера:

- **Милена Петров** – *координатор за производно подручје Север Србије* (планирани број узорака - 35);
- **мр Гордана Јовановић** - *координатор за производно подручје централне Србије*, (планирани број узорака - 35);

В. Овлашћене институције у шумарству - врше прегледе и узорковање на присуство *X. fastidiosa* у складу са овим документом:

- 1) током обављања здравствених прегледа садног материјала шумског и украсног биља;
- 2) током обављања прогнозно-извештајних послова.

Узорковање обављати у складу са овим документом, у координацији са овлашћеном лабораторијом.

Планирани број узорака до 20.

Г. Фитосанитарна инспекција - врши прегледе и узорковање биља на присуство *X. fastidiosa* у складу са овим документом, у гарден центрима, малопродајним објектима, дистрибутивним центрима увозника, пијацама.

Узорковање обављати у складу са овим документом, у координацији са начелником Фитосанитарне инспекције.

Планирани број узорака до 20.

Е. Гранична фитосанитарна инспекција - врши визуелне прегледе и узорковање биља на присуство *X. fastidiosa* при увозу, у складу са *Упутством за преглед и узорковање пошиљака биља при увозу.*

II ПРИНЦИПИ СПРОВОЂЕЊА ПОСЕБНОГ НАДЗОРА УКЉУЧУЈУЋИ ФАКТОРЕ РИЗИКА

Посебан надзор спроводи се у одговарајуће време, узимајући у обзир доступна научна и техничка сазнања и доказе, биологију штетног организма, његове векторе, присуство и биологију одређеног биља, као и било коју другу одговарајућу информацију, која се односи на присуство *X. fastidiosa*.

Посебан надзор укључујући узорковање на присуство *X. fastidiosa* у 2016. години спровешће се од јула до почетка септембра (у договору са овлашћеном лабораторијом).

1. ИДЕНТИФИКАЦИЈА МЕСТА ЗА НАДЗОР СА НАЈВЕЋИМ РИЗИКОМ

Идентификација локација са највећим ризиком врши се узимајући у обзир услове животне средине, порекло биља, начин његове производње и гајења, трговину и доступне информације о распрострањености *Xylella fastidiosa* у свету.

1.1. Путеви ширења људским фактором и ризичне тачке уношења у неко подручје

1.1.1. Постојеће шеме трговине

Фактори који су узети у обзир, везано за главне путеве уласка:

- различит ниво ризика везан за статус штетног организма у другим земљама;
 - широка распрострањеност;
 - установљена подручја слободна од штетног организма (pest free area);
 - поузданост изјаве земаља извозница.
 - трговина са ЕУ (директна или индиректна), везана за статус подручја – (Италија, Француска, Швајцарска, за сада);
 - обим трговине (велики број увозних пошиљака – Италија, мали – Француска);
 - биљне врсте којима се тргује;
 - потенцијално присуство вектора повезано са трговином.
- ⇒ *Висок ниво ризика*

1.1.2. Вероватноћа за установљивање у односу на услове животне средине (климатска погодност)

- ⇒ *Средњи ниво ризика* – Република Србија;
- ⇒ *Висок ниво ризика* – Медитеранске земље.

1.1.3 Расадници

Чињенице које треба разматрати:

- Биље из увоза;
- Порекло матичног биља;
- Места где се производе матичне биљке;
- Материјал за продају;
- Производња на отвореном пољу;
- Места производње у заштићеном простору (са заштићеним окружењем).

1.1.4 Места где се гаји или држи биље пореклом из ризичних подручја

Чињенице које треба разматрати:

- Недавно подигнуте плантаже, као што су комерцијални воћњаци, паркови и уређени простори;
- Малопродаја биља намењеног садњи;
- Гарден центри;
- Пијаце;
- Колекције биља.

1.2. Ширење вектора помоћу људи

Скривени инсекти (као „слепи путници“) у различитим превозним средствима (аутомобили, вагони, бродови) могу пренети бактерију на велике раздаљине у нова подручја, изван разграничених подручја.

Тачке уласка са густим саобраћајем и великим прометом идентификоване су као тачке ризика.

2. ИЗБОР ПРИОРИТЕТНОГ БИЉА ЗА НАДЗОР

2.1. Приоритетне биљке у односу на различите подврсте и сојеве *X. fastidiosa* које у овом тренутку проузрокују избијања и/или честа пресретања у Европи

*У прилогу - Листа потврђених биљака домаћина у односу на различите подврсте и сојеве *X. fastidiosa* у Европи.*

Приликом спровођења надзора приоритет треба дати вишегодишњим биљкама домаћинима, а нарочито биљкама домаћинима следећих родова и врста:

- *Prunus* sp., а посебно, *P. dulcis*⁴, *P. avium*⁵, *P. cerasifera*⁶.
- *Olea europea*¹ – маслина
- *Nerium oleander*² – олеандер
- *Polygala myrtifolia*³ – афричка мирта

С обзиром на велики број пресретања у Европи, посебну пажњу треба обратити на биљке украсне кафе и спровести обавезно узорковање асимптоматског биља:

- *Coffea* sp⁷.

¹ Домаћин *X. fastidiosa* subsp. *pauca* (CoDIRO) у региону Apulia (Италија) и *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* у Америци.

² Домаћин *X. fastidiosa* subsp. *pauca* (CoDIRO) у региону Apulia (Италија), као и subsp. *fastidiosa* и subsp. *sandyi* у Америци.

³ Домаћин *X. fastidiosa* subsp. *pauca* (CoDIRO) у региону Apulia (Италија) и *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* у Француској.

⁴ Домаћин *X. fastidiosa* subsp. *pauca* у региону Apulia (Италија), као и *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* и *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* у Америци.

⁵ Домаћин *X. fastidiosa* subsp. *pauca* у региону Apulia (Италија) и *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* у Америци.

⁶ Домаћин *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* у Француској и Америци.

⁷ Домаћин *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa*, *X. fastidiosa* subsp. *Pauca* and *X. fastidiosa* subsp. *sandyi*.

3. НАДЗОР И УЗОРКОВАЊЕ РИЗИЧНИХ ЛОКАЦИЈА

3.1 Одабир биљака

Неопходна је индивидуална процена од случаја до случаја везано за идентификовање фактора ризика (видети тачку 1).

Биљне врсте треба да буду одабране на основу Анекса I Правилника о мерама за откривање, спречавање ширења и сузбијање штетног организма *Xylella fastidiosa* (Wells et al.), начину одређивања граница зараженог, угроженог и подручја без штетних организама, условима за окончање наложених мера, као и начину обавештавања о предузетим мерама („Службени гласник РС“, број 31/16).

Прелиминарну процену о одабиру биљних врста треба дати у плану надзора и потврдити у коначном извештају.

3.2 Број узорака које треба узети

Мора се напоменути да симптоми зависе од комбинације специфичног домаћина и соја *X. fastidiosa*. Уопштено, симптоми укључују палеж листа, дефолијацију, хлорозу, пропадање и сушење грана, и патуљаст раст. Међутим, они се могу заменити са другим биотичким или абиотичким узроцима (стрес, недостатак воде, соли, загађење ваздуха, проблеми у исхрани и др.).

Број визуелних прегледа треба дефинисати сразмерно постојећем ризику у складу са тачком 1.

Пројектован број узорака - до 110.

3.3. Одговарајући период за надзор

Период за надзор и узорковање углавном зависе од биљака домаћина и услова средине. Не постоје научни докази који подржавају дирекну везу (корелацију) између сојева *X. fastidiosa* и периода узорковања.

3.3.1 Визуелни преглед

- а) Отворена поља – једногодишње и вишегодишње биљне врсте треба прегледати током вегетације (не током мировања), са оптималним периодом од касног пролећа до ране јесени;
- б) Заштићени простори – могу се прегледати током целе године;
- в) Расадници/гарден центри – симптоми нису увек очигледни на садном материјалу, и самим тим периодичне прегледе треба вршити у складу са циклусима производње.
- г) Поља и објекте за производњу матичних биљака треба контролисати пре вађења односно скидања репродуктивног материјала, пожељно од касног пролећа до ране јесени. Важно је напоменути да се садним материјалом дрвећа и репродуктивним материјалом воћних врста углавном тргује током зимске сезоне, док се баштенским и балконским биљем тргује од фебруара до краја јуна. Што се тиче *Polygala myrtifolia* на основу француског искуства, позитивни случајеви са највећим бројем позитивних налаза су нађени на биљкама посађеним на отвореном пољу пре више од две године, а која су се налазила у стамбеним подручјима и парковима, а не на местима продаје под заштићеним простором.
- д) места која примају вишеструке пошиљке могу захтевати више од једног прегледа годишње, заснованих на процени ризика.

3.3.2 Узорковање за лабораторијско тестирање

Узорковање за лабораторијско тестирање треба да се обави када и визуелни преглед. Период узорковања треба да буде током вегетационог периода.

- **Симптоматичне биљке**

За већину симптоматских домаћина, узорковање треба обавити када су симптоми најизраженији, од касног пролећа до ране јесени.

На основу искустава идентификованим у Италији и Француској, треба размотрити следеће аспекте:

- а) За *Polygala* spp., узорковање се може спровести од касног пролећа до ране јесени;
- б) За *Olea europea* и *Nerium oleander*, запажања у Италији (Apulia регион) показују да:
 - симптоми пропадања, сушења и палежи лишћа повезани са заразом *X. fastidiosa* се много јаче испољавају током лета, иако трају (остају) током читаве године;
 - у неким случајевима, симптоми су били, ипак, такође уочавани током зиме на почетку нове вегетације;
 - бактерија се могла детектовати током целе године коришћењем серолошких и молекуларних тестова, иако су се ови други доказали да имају виши ниво осетљивости и поузданости;
 - изолација бактерије током летње сезоне, из узорака сакупљених са поља након што је забележена висока температура (> 38 °C) није била успешна.
- в) За листопадне биљне врсте (нпр. *Prunus* spp.), у Италији (Apulia регион), бактерија је успешно детектована у симптоматичном лишћу сакупљеном током лета. Важно је нагласити да је детекција патогена била неуспешна у асимптоматичном лишћу сакупљеном раније у вегетацији са истог дрвећа.

- **Асимптоматично биље**

Узорковање је теоретски могуће током читавог вегетационог периода. Међутим, узорковање након топлих периода (нпр. касно лето – рана јесен) повећава могућност за прецизну бактеријску детекцију.

Одабир биљних врста и број узорака по месту надзора зависе од процене ризика, међутим треба дати приоритет биљкама са симптомима, уколико их има.

- **Вектори**

Узорковање и тестирање вектора врши се на основу процене ризика узимајући у обзир постојање потенцијалних инсеката вектора.

Net sweeping method (Метод чишћења мреже) се обично користи за узорковање одраслих јединки *Philaenus spumarius*. Примерци се могу сакупити директно са биљака домаћина или са околне вегетације.

3.4. Фреквенција понављања

- Фреквенција понављања за ризичне локације треба да се дефинише на основу одговарајућих фактора ризика;
- За отворена поља, у слободним подручјима (pest free areas), где су током визуелних прегледа пронађене само биљке без симптома, довољно је узорковање једном годишње у оптималном периоду;

- За расаднике и места са заштићеним простором, фреквенција узорковања треба да буде повезана са бројем производних циклуса.

4. УЗОРКОВАЊЕ БИЉАКА

4.1 Одговарајући период узорковања по врсти

Видети тачку 4.3.2.

4.2. Фреквенција понављања

Ако су уочени симптоми, узорковање треба поновити у различитим периодима, у зависности од типа и фенологије биља.

4.3 Како узети узорак

Узорак треба да се састоји од:

- зрелог ткива (гранчице и лишће); треба избегавати сакупљање делова младара у активном расту;
- зрелог лишћа са петелкама и здрвењених гранчица за вишегодишње биљне врсте;
- стабљике и зрелог лишћа у случају зељастих врста, где је могуће.

Ове врсте ткива могу да обезбеде највиши могући ниво детекције циљаног патогена. Уопштено, препорука је пратити опште принципе добре праксе за узорковање биљака и делова биља за лабораторијску анализу (нпр. обележавање места и узорка, дезинфекција алата). За узорковање треба обезбедити одговарајући алат, на пример у случају великих стабала неопходне су телескопске маказе.

4.3.1 Узорковање биљака са симптомима

Узети гранчице, гране и стабљике са симптоматичним лишћем, или близу симптома, избегавајући мртва ткива или делове биља у поодмаклој фази изражености симптома.

Смернице везане за одговарајуће узорке узете од биља без симптома за дијагностиковање *X. fastidiosa* биће дате у новом ЕРРО дијагностичком протоколу за *X. fastidiosa*.

4.3.2 Узорковање биљака без симптома

У случају дрвећа или жбуња, сваки узорак треба да се састоји од гранчица које носе зреле листове, сакупљених са различитих делова крошње сваке биљке.

Искуство из Италије (Апулија регион), када су у питању стабла маслине са раним стадијумом инфекције, је да узорке треба сакупљати са средњег горњег дела крошње у циљу повећања могућности раног откривања заразе.

Ако је потребно, биљке у стадијуму мировања се могу узорковати узимањем зрелих грана (нпр. зреле, здрвене резнице), са којих се изолује ткиво ксилема и обрађује за детекцију *X. fastidiosa*.

Смернице везане за узорке узете биља без симптома за дијагностиковање *X. fastidiosa* биће дате у новом ЕРРО дијагностичком протоколу за *X. fastidiosa*.

4.3.3. Како чувати, транспортовати узорке

Узорци треба да се:

- протресу како би се осигурали да се не преносе вектори са биљним материјалом (нпр. одрасли вектор ће одлетети, када се лишће или гране протресу). Важно је проверити да узорак не садржи било коју одраслу или јувенилну фазу векторске врсте.
- ставе у затворене посуде (нпр. пластичне кесе, и др.);
- држе на ниској температури избегавајући излагање сунцу или високим температурама дужи временски период;
- транспортују у дијагностичку лабораторију што је пре могуће.
У лабораторији, узорци се држе на температури од 4 – 10 °С, и прате се општи принципи добре лабораторијске праксе.

5. КАМПАЊЕ ПОДИЗАЊА СВЕСТИ

Информације, у вези са претњом *X. fastidiosa* за територију Републике Србије, треба учинити доступним свим интересним групама - увозницима, произвођачима, општој јавности, путницима, професионалним и међународним превозницима.

Све информације у вези са *X. fastidiosa* ажирираће се на сајту Управе за заштиту биља: www.uzb.minpolj.gov.rs.

Информације које се достављају о било каквој сумњи на присуство *X. fastidiosa* треба узети у обзир за одабир места надзора.

Кампање о подизању свести су се показале као користан алат за откривање нових налаза у другим земљама (нпр. аматери су омогућили откривање *X. fastidiosa* на биљу *Polygala myrtifolia* на територији Француске).

Рано откривање сумње на присуство *X. fastidiosa* повећава ефикасност контролне стратегије и спречава даље ширење бактерије.

У прилогу:

- Упутство за преглед и узорковање на присуство *X. fastidiosa*, са сликама симптома;
- Листа потврђених биљака домаћина у односу на различите подврсте и сојеве *X. fastidiosa*;
- Мапе заражених и угрожених (демаркираних подручја) у Европи.