

CAMPIONAMENTO DA MATERIALE VEGETALE SINTOMATICO

(Prelievo di materiale vegetale con sintomi evidenti, da sottoporre ad analisi diagnostica)

In presenza di sintomi su piante o frutti, prelevare alcune piante (5 sono sufficienti) che presentano sintomi evidenti ed omogenei; evitare, se possibile, materiale con sintomi in stato avanzato, con estese aree necrotiche o marcescenti.

Qualora sia possibile, si consiglia di prelevare sempre piante complete di apparato aereo e radicale, anche se il sintomo è osservato solo su foglie o frutti.

Se il campione è di dimensioni ridotte (piantine da vivaio o piante orticole di piccole dimensioni), avvolgerlo in carta da cucina leggermente inumidita e inserirlo in un sacchetto di plastica (tipo da freezer); in caso di piante arboree, è sufficiente chiudere il campione in un sacco di plastica.

Sigare accuratamente il sacchetto con il campione (tramite un cartellino identificativo o con un pennarello sul sacchetto) con le seguenti informazioni: data di campionamento, nome dell'azienda e specie campionata. Nel caso in cui si osservi la presenza di parassiti, prelevare le parti di pianta infestate oppure direttamente i parassiti, e introdurre il materiale all'interno di un contenitore chiuso (sacchetto di plastica, contenitore o provetta).

Per una diagnosi corretta è importante fornire informazioni aggiuntive riguardanti la problematica fitopatologica: per questo il campione deve essere accompagnato da apposita scheda di campionamento piante (MD001) debitamente compilata in ogni sua parte: informazioni sulle piante (specie, varietà), descrizione dei sintomi, ambiente e pratiche colturali.

Se possibile, effettuare fotografie esplicative delle piante con sintomi e del campo in cui si trovano, da inviare via mail a: info@verdelab.it, indicando come riferimento: data, nome azienda e specie.

I campioni e le relative schede compilate possono essere conferiti personalmente in laboratorio oppure inseriti in una busta imbottita o scatola di cartone e spediti al più presto tramite corriere.

Nei casi in cui non sia possibile spedire il campione immediatamente, questo deve essere conservato in frigorifero per il minor tempo possibile, evitando che sia sottoposto a calore o congelamento.

PROTOCOLLO DI CAMPIONAMENTO DELLE SEMENTI

Verdelab Bioscience consiglia le seguenti istruzioni di campionamento delle sementi al fine di ottenere un campione rappresentativo da sottoporre ad analisi di laboratorio

Lo scopo del campionamento è di ottenere un campione di sementi di dimensioni adeguate per le analisi di laboratorio, nel quale la probabilità che un componente sia presente è determinata unicamente dalla frequenza con la quale quel componente è rappresentato nel lotto.

Al fine di conseguire risultati di analisi validi e ripetibili è quindi indispensabile che il campione sia rappresentativo del lotto di seme da cui viene prelevato e che nel prelievo dei campioni venga applicata una metodologia idonea.

Riferimenti normativi: Decreto Ministeriale 22 dicembre 1992 – “Metodi ufficiali di analisi delle sementi”

Definizioni

Il Decreto definisce:

Campione: è la quantità convenzionale di seme atta a rappresentare un determinato lotto

Campione elementare: è la quantità di seme che proviene da ogni singolo prelievo effettuato sul lotto

Intensità di campionamento: è il numero minimo di campioni elementari da prelevare da ciascun lotto

Campione globale: è la quantità di seme che si ottiene unendo e mescolando tutti i campioni elementari

Cosa fare prima di campionare

Presso i locali dove è disponibile il lotto da campionare il tecnico incaricato verifica che:

- il lotto sia accessibile in ogni sua parte
- il numero delle confezioni corrisponda con la richiesta cartellini autorizzata
- sulle confezioni siano applicati i cartellini ufficiali di certificazione e la corretta sovrastampa degli stessi
- il lotto appaia omogeneo (stesso calibro, trattamento, confettatura)

Strumenti di campionamento

Le sonde utilizzate per campionare possono essere di misura e conformazione diversa a seconda delle dimensioni del seme da campionare, del tipo e dello stato della confezione (sacchi aperti, sacchi chiusi, silos, cassoni, big bag); in base a questi parametri variano lunghezza, calibro e compartimenti all'interno della sonda.

In alternativa, se si possiede un campionatore automatico per sementi in flusso, i prelievi possono essere eseguiti utilizzando un recipiente di sezione tale da comprendere quella del flusso, interponendolo a questo; la periodicità del prelievo e il quantitativo di ogni prelievo saranno regolati in modo da ottenere almeno 50 g di seme ogni 100 kg fluiti.

Modalità di campionamento

Il prelievo del campione può essere eseguito da un dipendente della ditta o da una ditta esterna autorizzata al campionamento. E' buona norma che il campionatore indossi guanti di lattice o per semi trattati guanti di nitrile, per evitare che polvere e prodotti chimici entrino a contatto con la pelle.

1. Verificare che il lotto madre sia:

- accessibile
- ben identificato
- la sua identità garantita

2. Dalle confezioni si devono prelevare campioni elementari di peso simile e con le stesse caratteristiche;

3. Le confezioni da campionare devono essere selezionate a caso all'interno del lotto;

4. I campioni elementari devono essere prelevati dalla sommità, dal mezzo e dal fondo delle confezioni;

5. Se il seme è alla rinfusa o in grossi contenitori, il campione elementare deve essere prelevato a caso sia per posizione che per profondità.

6. I campioni elementari prelevati dallo stesso lotto madre compongono il campione globale; dal campione globale si preleva casualmente il campione di analisi, delle dimensioni idonee allo svolgimento delle analisi richieste.

7. Il campione di analisi deve essere chiuso in busta, sacchetto di plastica o altro materiale idoneo alla conservazione del campione, che sia pulito, integro, sigillato o comunque ben chiuso, da non permetterne la dispersione e la manipolazione del contenuto. I contenitori devono essere provvisti di etichetta o comunque esternamente devono riportare le seguenti informazioni: specie, varietà, nr di lotto, ditta.

8. I campioni di analisi devono essere tempestivamente spediti al laboratorio, provvisti di lettera di accompagnamento.

Valutazione del numero di campioni elementari:

A) Se il seme è in sacchi da 100 kg o in confezioni similari e di dimensioni uniformi:

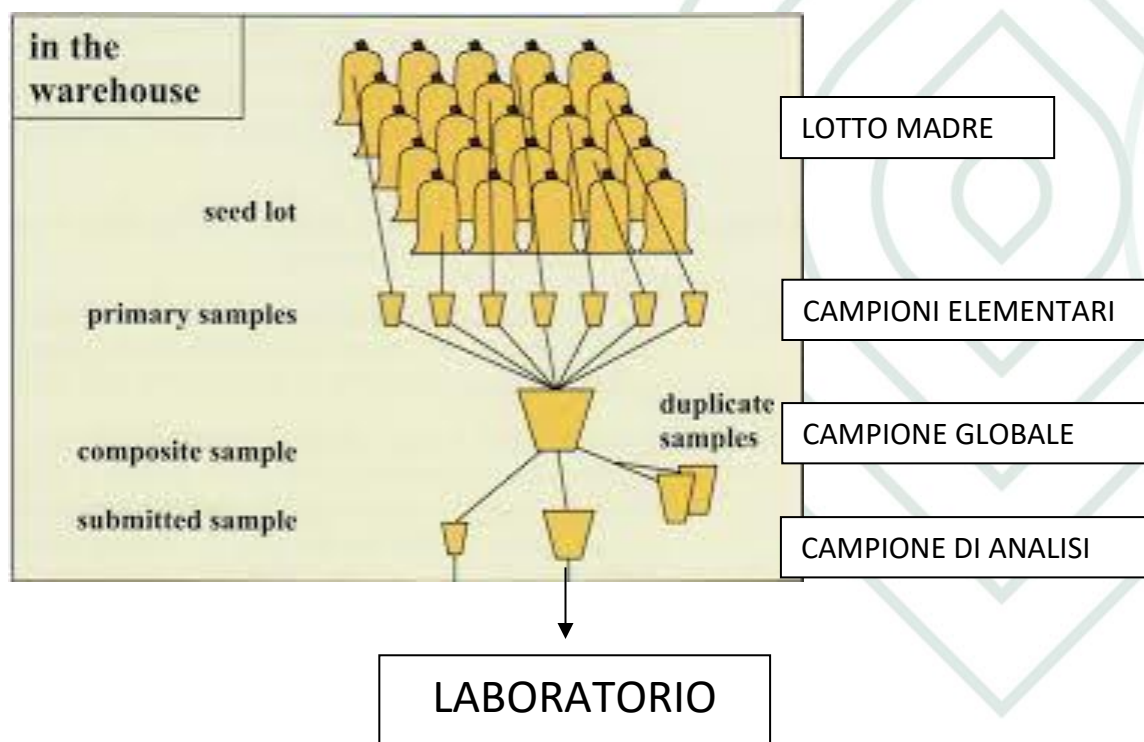
- fino a 5 confezioni: 1 campione elementare per ogni imballaggio;
- fino a 30 confezioni: almeno 1 campione elementare ogni 3 confezioni;
- oltre le 30 confezioni: almeno 1 campione elementare ogni 5 confezioni.

B) Se il seme è in confezioni di peso inferiore a 100 kg: le confezioni devono essere idealmente raggruppate fino a raggiungere l'unità di campionamento più prossima per difetto a 100 kg; si procede poi come al punto A).

C) Se il seme è sfuso (in mucchio, cassoni, vagoni, big bag, ecc.) o si muove in flusso continuo è necessario prelevare i campioni elementari come indicato nella seguente tabella:

Peso totale lotto	nr minimo di campioni elementari	Note
<50 kg	3	-
51 - 500 kg	5	-
501 - 3.000 kg	1 ogni 300 kg	Almeno 5 campioni elementari
3.001 - 40.000 kg	1 ogni 500 kg	Almeno 10 campioni elementari

D) Se il lotto è di piccole dimensioni (fino a 5 kg) si consiglia di prelevare un campione elementare in percentuale sul peso totale del lotto; Verdelab Bioscience consiglia di prelevare da 0,3% a 1% del lotto madre.



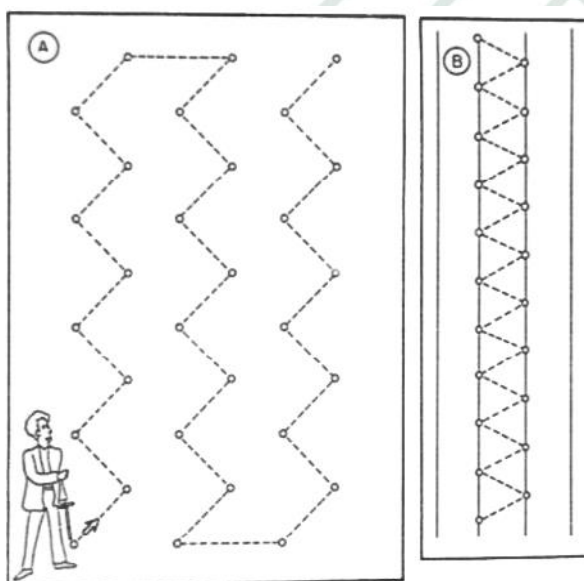
CAMPIONAMENTO DA MATERIALE VEGETALE ASINTOMATICO

Verdelab Bioscience ha messo a punto la presente istruzione operativa, consigliata dal Servizio Fitosanitario Regionale, nel caso ci sia la necessità di effettuare campionamenti di materiale vegetale asintomatico (apparentemente sano, senza segni evidenti di malattia) come rami, fusti, foglie o intere piante, qualora si sospetti, o si voglia monitorare la presenza di un patogeno.

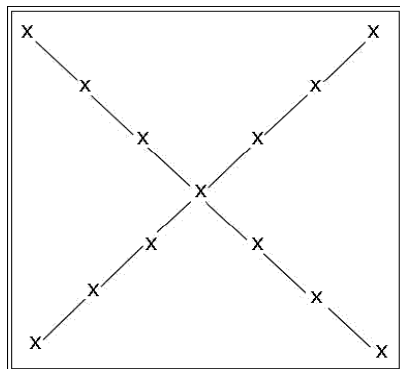
In questi casi, viene utilizzato un diagramma di campionamento sistematico randomizzato.

Il prelievo viene fatto ad intervalli regolari procedendo secondo una direttrice, che varia a seconda dell'estensione della superficie e della coltura da campionare. Indipendentemente dalla grandezza dell'appezzamento si consiglia di prelevare campioni da più piante; la tipologia di campione da prelevare dipende dal tipo di patogeno da ricercare.

SCHEMA A W: si procede a zig-zag su tutta la superficie; ad ogni cambio di direzione si preleva un campione:



SCHEMA A X: si procede lungo le diagonali dell'appezzamento, decidendo in base alle dimensioni dell'appezzamento quanti campioni prelevare lungo ciascuna diagonale:



Se il campione è di dimensioni ridotte (piante da vivaio o piante orticole di piccole dimensioni), avvolgerlo in carta da cucina leggermente inumidita e inserirlo in un sacchetto di plastica (tipo da freezer); in caso di piante arboree, è sufficiente chiudere il campione in un sacco di plastica.

Sigare accuratamente il sacchetto con il campione (tramite un cartellino identificativo o con un pennarello sul sacchetto) con le seguenti informazioni: data di campionamento, nome dell'azienda e specie campionata.

Ogni campione deve essere accompagnato da apposita scheda di campionamento piante (MD001) debitamente compilata in ogni sua parte.

I campioni e le relative schede compilate devono essere conferiti personalmente in laboratorio oppure inseriti in una busta imbottita o scatola di cartone e spediti al più presto tramite corriere.

Nei casi in cui non sia possibile spedire il campione immediatamente, questo deve essere conservato in frigorifero per il minor tempo possibile.

CAMPIONAMENTO DI FOGLIE PER ANALISI MOLECOLARI

Campionamento in piastra pcr (consigliato se si desidera rintracciare le singole piante): prelevare con una pinza una piccola porzione di foglia (delle dimensioni di 0,5 cm circa) da ogni pianta da analizzare, e inserirla in un pozzetto di una piastra pcr (che forniamo a richiesta).

La piastra pcr ha 96 pozzetti, ma gli ultimi due (G12 e H12) devono essere lasciati vuoti, perché al loro interno verranno inseriti in laboratorio i genotipi di controllo.

Le piastre devono essere chiuse con pellicola sigillante (adesivo per piastre oppure pellicola per alimenti) e opportunamente siglate per il loro riconoscimento.



Campionamento senza piastra: raccogliere una foglia da ogni pianta da analizzare e metterla in un sacchetto di plastica, tipo da freezer; per varietà diverse utilizzare sacchetti separati e siglati.

NOTA IMPORTANTE:

Poiché la qualità del materiale di partenza influisce notevolmente sulla riuscita dell'analisi molecolare, Verdelab Bioscience non assicura che l'analisi funzioni per tutti i marcatori e per tutti i genotipi.

Per limitare al massimo tale problema, si raccomandano le seguenti attenzioni:

1. prelevare foglie giovani da piante giovani;
2. evitare di raccogliere i cotiledoni e la prima foglia vera
3. prelevare da piante che non abbiano subito stress (sbalzi di temperatura, siccità, ecc.)
4. prelevare da piante possibilmente non trattate; in caso non sia possibile, meglio scegliere piante trattate più di una settimana prima del campionamento;
5. evitare le foglie bagnate e rovinare
6. Inserire una sola foglia per pozzetto (non mescolare più piante);
7. inviare il materiale il prima possibile in laboratorio (se necessario conservare in frigorifero);
8. in estate, inserire un elemento raffrescante nel pacco, non a diretto contatto con le piastre per evitare il congelamento dei campioni.