

CRITERII DE ACCEPTABILITATE TEHNICĂ

1. SERVICIUL ENTOMOLOGIE

1.1. Unitatea tehnică: ENTOMOLOGIE

Criteriile avute în vedere la acceptabilitatea tehnică sunt diferențiate în funcție de tipul probei:

- **Pentru probe constituite din insecte:**

- preferabil vii și întregi, în toate stadiile, însoțite de planta gazdă, ambalate astfel încât să se evite răspândirea accidentală în timpul transportului;
- exemplarele adulte din *Ord. Lepidoptera* (fluturi) trebuie să fie omorâte (congelare sau cloroform) pentru a se evita deteriorarea aripilor în timpul transportului;
- expedierea *lepidopterelor* se face în stare uscată (etalate sau în plic); exemplarele din *Ord. Coleoptera* (gândaci) pot fi de asemenea expediate în stare uscată având grijă să nu se deterioreze antenele la unele specii (ex. fam. *Cerambycidae*).
- exemplarele din *Ord. Thysanoptera* (tripsi), *Ord. Acari* (acarieni) și *Ord. Diptera* (muște, țânțari) pot fi conservate și expediate în alcool etilic 70%;
- larvele vii se colectează în tuburi transparente, incasabile, individual (datorită unor fenomene de canibalism) împreună cu o porțiune din planta gazdă;
- larvele pot fi expediate și moarte (larvele depistate se cufundă în apă fiartă, se lasă câteva minute să se răcească în lichid, apoi se plasează în alcool etilic 70%).

Atentie! nu se folosește alcool sanitar pentru colectare și expediere deoarece schimbă culoarea insectelor și face imposibilă identificarea acestora, probele respective fiind refuzate pentru analiză.

- **Pentru probe constituite din material vegetal :**

- pentru depistarea speciei *Rhizoecus hibisci*, sunt acceptate plantele la ghiveci, cu balotul de pământ întreg și rădăcinile nederanjate, aparținând speciilor de plante gazdă;
- pentru depistarea tripsilor, trebuie evitat ca solul să ajungă pe partea aeriană a plantelor;
- plantele/fragmentele de plante nu trebuie să fie complet uscate sau într-un stadiu avansat de putrezire;
- bucățile de lemn, cu simptome de atac sau care conțin larve, pupe și/sau adulți se ambalează astfel încât să se evite riscul răspândirii organismelor dăunătoare.

- **Capcane**

- capcanele lipicioase (pe o singură parte) se pliază (nu se rulează!!) cu partea adezivă spre interior și se capsează pentru a nu se desface, fără a se presa, astfel încât cele două fețe adezive să nu se lipească între ele.

1.2. Unitatea tehnică: NEMATOLOGIE

Aspectele avute în vedere la acceptabilitatea tehnică sunt următoarele :

- pentru depistarea nematozilor *Aphelenchoides* spp., proba trebuie să fie constituită din fragmente de plante și semințe, după caz;
- bulbii și tuberculii de cartof nu trebuie să fie înghețați.
- pentru depistarea nematodului *Bursaphelenchus xylophilus* din insecte din genul *Monochamus*, se recomandă ca acestea să fie vii și expediate în recipiente care să permită pătrunderea aerului, pentru a împiedica moartea insectelor.

Cantitatea minimă necesară efectuării analizelor nematologice:

- **Semințe:**
 - *Allium* spp. – 50 g/analiză
 - orez – 1000 g/analiză;
 - grâu, triticale, secară – 1000 g/analiză (sau minim 10 boabe cu simptom/analiză);
 - lucernă - 100 g/probă;
- rădăcini cărnoase - 1 -50 buc. sau minim 10 g /probă
- radicele - 3 -30 buc./probă
- plante la ghiveci - minim 1 buc./probă
- plante acvatice întregi - 5 buc/probă
- răsaduri/stoloni - 10 buc./probă
- bulbi, rizomi - 10 buc./probă (plante ornamentale)
- arpagic - 1 kg/probă;
- tuberculi cartof sămânță
(*Ditylenchus destructor*, *Meloidogyne chitwoodi* și *M. fallax*) - 40 buc./probă
- rumeguș și/sau lemn (arbori uscați și/sau cu simptome) – 300 g/probă
- rumeguș și/sau lemn depozitat – 300 g/probă
- sol:
 - pentru *Globodera* spp. – conform planului de monitorizare – 400 ml (500 g) sau 1500 ml (2 kg);
 - pentru nematozi liberi – 200 g/analiză;
 - pentru nematozi cu chiști (în afara planului de monitorizare) – 200 ml/analiză.

Remarcă: dacă pe aceeași parcelă se solicită analize pentru nematozi cu chiști, nematozi vectori din fam. *Longidoridae* și alți nematozi liberi, se vor trimite 3 probe distincte.

- sol și mediu de creștere atașat plantelor – minim 100 g/probă.

2. SERVICIUL FITOPATOLOGIE

2.1 Unitatea tehnică: MICOLOGIE

În vederea efectuării analizelor, proba trebuie să îndeplinească următoarele criterii de acceptabilitate tehnică:

- plante întregi, plante la ghiveci cu simptome - minim 1 bucată;
- fragmente ramuri/lăstari cu sau fără frunze/ace care prezintă simptome - minim 5 bucăți de 15-20 cm lungime;
- frunze cu simptome - 4 - 6 bucăți;
- fragmente trunchi cu simptome - minim 2 bucăți de 15 cm lungime;
- rondelile de lemn, cherestea cu simptome - segmente din 5 bucăți , din cel puțin 2 puncte;
- bușteni tăiați (cu grosimea de 6-12 cm) - minim 5 bucăți;
- fragmente de rădăcini sau colet cu simptome - minim 5 bucăți;
- fragmente scoarță izolată - minim 1 bucată de 10x10x3 cm lungime;
- fructe cu simptome - min. 5 bucăți/probă, ambalate individual pentru speciile cu fructe mari (cais, măr, păr, prun, nectarin, piersic);
 - min. 20 bucăți/probă, ambalate individual pentru speciile cu fructe mici (cireș, vișin);
- flori și inflorescențe - minim 3-5 bucăți;

- semințe grâu, seară și *X Triticosecale* - 1000 g;
- semințe conifere - 1500 semințe/probă;
- semințe alte specii - 500 g;
- sol - minim 250 g.

Plantele/fragmentele de plante nu trebuie să fie uscate sau într-un stadiu avansat de putrezire care să împiedice aplicarea metodelor de analiză.

2.2 Unitatea tehnică: BACTERIOLOGIE

Mărimea probelor variază în funcție de tipul probei și organismul dăunător solicitat.

• **Semințe:**

- semințe lucernă – 50 g semințe / probă (pentru *Clavibacter michiganensis* ssp. *insidiosus*)
- semințe tomate – 10 000 semințe sau 25 g/probă, pentru *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* și *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*; în cazuri speciale (ex. hibrizi) se poate preleva o probă mai mică de semințe (minim 2 000 semințe sau 5 g);
- semințe ardei – 1000 de semințe sau 7 g / probă (pentru *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*);
- semințe legume – 500 g / probă;
- semințe cereale – 1 000 g / probă.

• **Tuberculi de cartof cu sau fără simptome:**

- proba să nu conțină pământ și alte resturi vegetale;
- proba să nu fie putrezită;
- în cazul analizelor pentru detecția bacteriilor *Ralstonia solanacearum* și *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* prin imunofluorescență, proba trebuie să conțină minim 200 tuberculi, de dimensiune medie.

• **Ape de suprafață (pentru *Ralstonia solanacearum*)**

- 100 ml (2x50 ml) / punct de prelevare.

• **Deșeuri industriale / ape reziduale (pentru *Ralstonia solanacearum*)**

- 500 ml / punct de prelevare.

• **Macerate cartof** (provenite de la Laboratorul regional de Bacteriologie Bacău)

- trebuie să fie foarte bine sigilate, pentru a se evita contaminarea între probe;
- proba trebuie să conțină: recipientul inițial cu macerat, un microtub cu macerat centrifugat, o lamă analizată prin imunofluorescență și o lama pipetată și fixată.

• **Plante și fragmente plante cu simptome:**

În cazul plantelor întregi:

- proba trebuie să fie alcătuită din cel puțin 2-3 plante;
- proba trebuie să prezinte zone cu simptome și zone fără simptome.

În cazul fragmentelor de plante:

- proba trebuie să conțină cel puțin 5-6 segmente de 20-25 cm lungime. Fiecare segment trebuie să prezinte o porțiune cu simptom și o porțiune fără simptom.

Pentru ambele cazuri:

- proba nu trebuie să fie uscată și/sau putrezită;
- proba trebuie să fie curată (fără resturi și pământ).

• **Plante și fragmente de plante fără simptome:**

Pentru *Erwinia amylovora*

- pepiniere furnizoare de portaltui și plantații mamă furnizoare de altoi, livezi producătoare de semințe - proba (100 fragmente de lăstari cu lungime de 10 cm) poate fi prelevată din cel mult 3 soiuri care cresc grupate pe o suprafață de maxim 1 ha;
- pepiniere de portaltui vegetativi/generativi - o probă (100 fragmente de lăstari cu lungime de 10 cm) se prelevează din plante gazdă din cel mult o specie, care cresc grupate (parcelă, rânduri);
- pepiniere de alte plante gazdă - o probă (100 fragmente de lăstari cu lungime de 10 cm) poate fi colectată din cel mult 3 soiuri care cresc grupate pe o suprafață de 1 ha;
- plante gazdă în repaus vegetativ (import / circulație intracomunitară) – o probă este constituită din minim 6 lăstari de 25 cm.

Pentru *Xanthomonas fragariae*

- minim 5 plante de *Fragaria* spp. cu excepția speciei de *Fragaria moschata* care este imună la atacul bacteriei *Xanthomonas fragariae*.

2.3 Unitatea tehnică: VIROLOGIE

Aspectele avute în vedere la acceptabilitatea tehnică sunt următoarele:

- **Vița de vie**
 - pentru depistarea virusurilor:
 - În perioada de vegetație:
 - aproximativ 20 frunze cu pețiooli /probă (de preferință cu simptome)
 - În perioada de repaus vegetativ:
 - 3-5 butași sau
 - 5 coarde
- **Pomi fructiferi**
 - pentru depistarea virusurilor:
 - În perioada de vegetație:
 - frunze – 10 bucăți/ probă;
 - flori – 20 bucăți/probă;
 - fructe – 5 bucăți/probă;
 - În perioada de repaus vegetativ
 - minim 6 fragmente de ramuri cu lungimea de 25 cm
- **Arbuști fructiferi**
 - pentru depistarea virusurilor:
 - frunze – 10 bucăți/probă;
 - plantă întreagă – 3-5 bucăți/probă;
- **Legume**
 - pentru depistarea virusurilor:
 - frunze – 10 frunze /probă
 - fructe – 10 fructe/ probă
 - răsaduri – 10 bucăți/probă
 - plante întregi – 1 bucată/probă
- **Plante ornamentale**
 - pentru depistarea virusurilor:

- frunze – 10 bucăți/probă
- plante întregi – 1 bucată/probă
- răsaduri – 10 bucăți/probă
-
- **Bulbi flori**
 - pentru depistarea virusurilor:
 - 5 bucăți/probă;
- **Semințe:**
 - *Prunus* spp. – cantitatea minimă necesară este de 1000 g/probă;
 - *Rubus* spp. – cantitatea minimă necesară este de 3.0 g/probă;
 - *Lycopersicon lycopersicum* - cantitatea minimă necesară este de 3000 semințe* pentru depistarea organismului Pepino mosaic virus (probă comună pentru detecția organismului Potato spindle tuber viroid).

2.4 Unitatea tehnică: BIOLOGIE MOLECULARĂ

- Pentru depistarea fitoplasmelor:

Grapevine flavescence dorée / Candidatus phytoplasma solani (Bois noir):

- în perioada de vegetație
 - 20 frunze cu pețiole/probă (de preferință cu simptome);
- în perioada de repaus vegetativ:
 - 5 butași sau
 - 5 coarde / probă

MLO: Candidatus phytoplasma pyri (Pear decline), Candidatus phytoplasma mali (Apple proliferation), Candidatus phytoplasma prunorum (Apricot chlorotic leafroll):

- în perioada de vegetație:
 - 20 frunze cu pețiole din fiecare pom cu simptome;
 - probe colective alcătuite prin recoltarea a câte 2 frunze / pom x 10 pomi fără simptome.
- în perioada de repaus vegetativ
 - minim 6 lăstari cu lungimea de aproximativ 25 cm (de preferat) sau
 - 10 segmente de rădăcină cu grosimea de max.1 cm și lungimea de câțiva cm.

Candidatus phytoplasma solani (Potato stolbur mycoplasma):

- min 10-15 frunze cu simptom (*Solanaceae*: cartof, tomate, ardei, plante ornamentale);
- 1-2 plante întregi (*Solanaceae*: cartof, tomate, ardei, plante ornamentale);
- min. 15-20 tuberculi cartof / probă.

Potato spindle tuber viroid:

- min. 1 plantă cu simptom / probă;
- min. 15- 20 tuberculi cartof cu simptom / probă;
- 3000 semințe* tomate sau 7,5 g (probă comună pentru detecția organismului Pepino mosaic virus).

Tomato brown rugose fruit virus

- 200 frunze tinere din vârful plantelor asimptomatice / loc de producție/cultivare;
- minim 3-10 frunze simptomatice (în funcție de mărime)/ loc de producție/cultivare
- 3000 semințe tomate/ardei.

Xylella fastidiosa

- 10-25 frunze mature din aceeași plantă sau de la mai multe plante cu același simptom;
- 4-10 ramuri din aceeași plantă sau de la mai multe plante cu același simptom (25 cm);
- 1 plantă (în cazul plantelor mici).

CONDIȚII GENERALE DE ACCEPTABILITATE A PROBELOR:

- analiza solicitată să fie inclusă în lista analizelor efectuate de către unitățile tehnice de diagnoză din cadrul LNF;
- probele să nu fie constituite din amestec de specii sau soiuri;
- probele să nu fie tratate chimic în exces.

Notă! În cazul probelor cu simptome evidente, pot fi acceptate și cantități mai mici decât cele prevăzute în prezenta anexă.

* Mărimea probei este fixă, indiferent dacă testul se realizează pentru depistarea unui organism dăunător sau pentru ambele, în același timp.