

DISCIPLINARE PER LA PRODUZIONE DI PIANTE MICORRIZATE CON
TARTUFO CERTIFICATE

REQUISITI TECNICI DELLE STRUTTURE E DELLE ATTREZZATURE PER
LA PRODUZIONE DELLE PIANTE MICORRIZATE CON TARTUFO

A) PRODUZIONE DELLE PIANTE DA INOCULARE

Tutte le fasi di produzione delle piante da inoculare (semenzali, talee radicate e piante micropropagate) devono essere effettuate in serre, costruite in modo che sia ostacolata la possibilità di inquinamento delle piante da parte di funghi ectomicorrizici estranei. Le serre, in particolare, devono rispondere ai seguenti requisiti:

1. la pavimentazione deve garantire il completo isolamento fra il terreno e il piano di calpestio che può essere realizzato:
 - a) con adeguato vespaio rifinito con brecciolino o altro materiale inerte che assicuri un efficiente drenaggio;
 - b) con battuto di cemento o altro materiale.
2. I cassoni per i semenzali e i vasi in cui vengono allevate le piante devono essere opportunamente distanziati dal piano di calpestio, utilizzando appositi bancali o supporti di almeno 20 cm di altezza.
3. L'ingresso alle serre è consentito solo dopo avere indossato appositi calzari monouso o sterilizzando le suole con una apposita soluzione disinfettante.
4. I bancali devono essere lavati e disinfettati con una soluzione di sodio ipoclorito al 2% prima dell'inizio di ogni ciclo colturale.
5. I contenitori per la coltivazione delle piante devono essere nuovi o, se riutilizzati, devono essere sterilizzati a vapore o comunque opportunamente disinfettati.
6. Il substrato per la coltivazione delle piante deve essere costituito da una miscela inerte (agriperlite e/o vermiculite). Nel caso si utilizzino altri substrati o il substrato sia riutilizzato, esso dovrà essere sterilizzato a vapore per garantire l'assenza di funghi ectomicorrizici estranei.
7. Tutte le operazioni colturali dovranno essere riportate in apposito registro.
8. Per l'irrigazione delle piante è proibito l'uso di acque di superficie.

B) INOCULAZIONE DELLE PIANTE

1. Il vivaio deve essere fornito di adeguati ambienti per le inoculazioni, adeguatamente disinfettati e separati dalle serre ove vengono prodotte le piante.
2. Le piante dovranno essere micorrizzate con tartufi e appartenenti alle seguenti specie:
 - *Tuber melanosporum* Vittad.;
 - *Tuber aestivum* Vittad. (anche nella forma *uncinatum*);
 - *Tuber borchii* Vittad.;
 - *Tuber brumale* Vittad.;
 - *Tuber macrosporum* Vittad.;
 - *Tuber mesentericum* Vittad.
3. L'inoculazione delle piante potrà essere effettuata sia con metodo sporale che miceliare.
4. Le piante destinate all'inoculazione dovranno soddisfare i requisiti previsti dal D. Lgs. 10/11/2003, n. 386, e dalla L.R. 06/07/2007, n. 10, se si utilizzano specie elencate nell'allegato I del citato D. Lgs. n. 386/2003, oltre al *Corylus avellana* L. anche in varietà da frutto.
5. I tartufi necessari per l'inoculazione devono essere di origine italiana. I tartufi possono avere provenienza diversa solo nel caso che le piante siano destinate al mercato estero: in tal caso i lotti interessati devono essere identificabili e mantenuti separati da quelli destinati al mercato nazionale, come pure la relativa produzione di piante;
6. L'origine dei tartufi deve essere documentata con fattura o autocertificazione (dichiarazione sostitutiva dell'atto di notorietà ai sensi dell'art. 47 del D.P.R. n. 445/2000) che ne attesti la loro provenienza geografica.
7. I tartufi da impiegare per l'inoculazione possono essere conservati secondo le seguenti modalità: essiccazione, stratificazione in sabbia in ambiente refrigerato o congelazione in freezer. Ogni fornitura di tartufi appartenenti alla medesima specie dovrà essere conservata in confezioni numerate progressivamente, riportate nel "Registro delle piante micorrizzate".
8. Almeno un grammo della sospensione sporale o essiccato sporale utilizzati per l'inoculazione di un lotto dovranno essere sigillati in provette, opportunamente conservate per analisi molecolari per almeno due anni; dette provette dovranno riportare un numero progressivo che dovrà essere annotato nel "Registro delle piante micorrizzate".
9. Nel caso di inoculazione miceliare si dovranno indicare nel "Registro del materiale per l'inoculazione" la specie, la data di isolamento, la provenienza, il numero

dell'isolato e il suo "mating-type". Ciascun isolato dovrà essere conservato in provette presso l'azienda produttrice, almeno per due anni; dette provette dovranno riportare un numero progressivo, da annotare nel "Registro delle piante micorrizzate".

10. Le piante micorrizzate prodotte in azienda devono essere distinte in lotti. Ogni lotto, composto da un massimo di 500 piante, deve essere costituito da: piante della stessa specie e provenienza, della stessa età, ottenute con uguali metodologie di propagazione, inoculate con la stessa tecnica in un arco di tempo non superiore a un giorno (24 ore), con la medesima specie di *Tuber* e coltivate nel medesimo ambiente. Ogni lotto dovrà essere registrato nel "Registro delle piante micorrizzate".

C) PRODUZIONE DELLE PIANTE INOCULATE

Entro trenta giorni dall'inizio del processo di inoculazione delle piante va inviata comunicazione al Servizio Fitosanitario, mediante apposito modulo da esso predisposto. Le fasi di coltivazione delle piante inoculate con tartufo devono essere effettuate in serre costruite in modo da ostacolare le possibilità di inquinamento delle piante con funghi ectomicorrizici diversi da quelli usati in fase di inoculo e comunque non previsti dal Disciplinare.

Le serre devono rispondere ai seguenti requisiti:

1. La pavimentazione deve garantire il completo isolamento fra il terreno e il piano di calpestio, il quale può essere realizzato:
 - a) con adeguato vespaio, rifinito con brecciolino o altro materiale inerte che assicuri un efficiente drenaggio;
 - b) con battuto di cemento o altro materiale.
2. I bancali per la coltivazione delle piante inoculate devono avere il piano di appoggio sollevato dal terreno e preferibilmente costituito da una rete, in modo da evitare la contaminazione delle piante con l'acqua di scolo.
3. L'ingresso alle serre è consentito solo dopo avere indossato calzari monouso o dopo avere sterilizzato le suole con idonea soluzione disinfettante.
4. I lotti di piante inoculate con differenti specie di tartufo possono essere allevate nella stessa serra, purché ben separati fra loro, in modo tale che non vi siano possibilità di contaminazione tramite l'acqua di irrigazione.
5. Prima dell'inizio di ogni ciclo colturale i bancali devono essere lavati e disinfettati con una soluzione di sodio ipoclorito al 2%.

6. I contenitori per la coltivazione delle piante devono essere nuovi o, se riutilizzati, devono essere sterilizzati a vapore.
7. Il terreno per la coltivazione delle piante inoculate deve essere sterilizzato a vapore, per garantire l'assenza di funghi ectomicorrizici estranei.
8. La disposizione dei diversi lotti di piante micorrizzate deve essere riportata in una mappa, costantemente aggiornata.
9. Tutte le operazioni colturali dovranno essere riportate nell'apposito registro.
10. Per l'irrigazione delle piante sono da escludere acque di superficie.
11. I quantitativi e le tipologie di piante micorrizzate con tartufo a cui applicare il cartellino-certificato devono essere riportati nel "Registro delle piante micorrizzate" e comunicati al Servizio Fitosanitario con apposito modulo prima della loro commercializzazione. Nel modulo dovrà essere riportato anche il numero di piante delle quali si richiede la certificazione.
12. L'utilizzo del cartellino-certificato è autorizzato dal Servizio Fitosanitario senza un provvedimento espresso, pertanto la certificazione si intende accordata trascorsi 10 giorni dal ricevimento della comunicazione di cui al precedente punto 11.
13. Le piante micorrizzate con tartufo certificate devono essere cartellate e commercializzate entro 12 mesi dalla data di certificazione, se al controllo sono risultate esenti da funghi ectomicorrizici estranei, fatto salvo quanto previsto dal successivo punto 14.
14. Le piante micorrizzate con tartufo certificate di cui al punto 13 possono essere commercializzate entro 2 anni dalla data di prima certificazione, a condizione che siano state sottoposte a un ulteriore controllo della micorrizzazione e che siano commercializzate entro 12 mesi dall'ultimo controllo.
15. In deroga alla tempistica stabilita ai punti precedenti, il Servizio Fitosanitario, a seguito di motivata richiesta dell'interessato, può rilasciare specifiche autorizzazioni alla commercializzazione, previo ulteriore controllo della micorrizzazione.

D) VALUTAZIONE DEL GRADO DI MICORRIZZAZIONE DELLE PIANTE TARTUFIGENE

Per essere ritenuta idonea ai fini della certificazione una pianta deve presentare contemporaneamente i seguenti requisiti:

1. la percentuale di micorrize del tartufo inoculato deve essere pari o superiore al 30% del totale degli apici radicali;

2. la percentuale massima tollerabile di apici micorrizzati da funghi diversi dal tartufo inoculato non può superare, in ogni caso, il 10% del totale degli apici radicali;
3. la differenza tra la percentuale degli apici micorrizzati dal tartufo inoculato e quella degli apici micorrizzati da altri funghi non deve essere inferiore a 30%;
4. non è ammessa la presenza di specie di *Tuber* diverse da quella dichiarata.

E) REQUISITI DI IDONEITÀ DI UN LOTTO DI PIANTE MICORRIZZATE

Modalità di campionamento

Ciascun lotto non può essere costituito da più di 500 piante, dai quali dovrà essere prelevato, ai fini della certificazione, un campione consistente in almeno dieci esemplari.

Le singole piante che costituiscono il campione sono prelevate casualmente, sotto la responsabilità del laboratorio che effettua le analisi.

Le piante campionate, in attesa delle analisi, dovranno essere oggetto delle normali cure colturali per salvaguardarne la integrità.

Ogni pianta facente parte del campione è analizzata secondo la metodologia di seguito descritta.

Per ciascun lotto analizzato è compilata la scheda di idoneità basata sulla valutazione tramite identificazione delle micorrize su base morfologica, anatomica, biometrica e/o molecolare, e del grado di micorrizzazione di ogni pianta appartenente al campione in analisi.

La presenza e l'identificazione delle micorrize sulle piante si accerta con le seguenti operazioni:

1. si estrae la pianta dal contenitore e si lava accuratamente l'apparato radicale senza danneggiarlo;
2. si esamina al microscopio stereoscopico l'intero apparato radicale, al fine di individuare la presenza di micorrize del genere *Tuber* e di eventuali altri funghi differenziabili in rapporto ai loro caratteri morfologici e biometrici;
3. si effettua quindi l'analisi microscopica delle diverse micorrize rilevate per procedere alla identificazione della specie di tartufo inoculata e alla individuazione di eventuali micorrize estranee;
4. nei casi dubbi occorre ricorrere alla identificazione dei funghi micorrizici tramite caratterizzazione genetica;

5. valutazione del grado di micorrizzazione della singola pianta componente il campione sottoposto al controllo.

Il grado di micorrizzazione può essere stabilito mediante una stima visuale (F) o mediante il conteggio degli apici micorrizzati (G).

F) MODALITÀ DELLA STIMA VISUALE

Si esamina l'intero apparato radicale al microscopio stereoscopico e si stima la percentuale di apici micorrizzati con il tartufo inoculato rispetto al totale di apici presenti nella pianta.

Questo metodo può essere applicato solo qualora non siano stati preventivamente trovati funghi di altre specie con l'identificazione effettuata al punto precedente e qualora la percentuale di micorrizzazione sia superiore del 10% rispetto ai requisiti minimi richiesti. Nei casi dubbi si dovrà ricorrere al metodo del conteggio, di seguito descritto:

- 1) se il grado di micorrizzazione stimato è superiore al 30% e sono assenti inquinanti, la pianta è considerata idonea alla certificazione;
- 2) se il grado di micorrizzazione stimato è inferiore al 30% o sono presenti inquinamenti da *Tuber spp.* diversi dall'inoculato, la pianta non è considerata idonea alla certificazione;
- 3) se sono presenti altre spp. fungine, la differenza tra il grado di micorrizzazione tra la specie di tartufo inoculata e dichiarata deve essere superiore al 30%;
- 4) se il grado di micorrizzazione stimato è compreso fra il 20% e il 40%, si attua il metodo del conteggio.

G) MODALITÀ DEL CONTEGGIO

Si individuano nell'apparato radicale, considerato nel suo insieme, a partire dal colletto e fino alla sua estremità, due settori di uguale lunghezza: uno prossimale e l'altro distale, non considerando la eventuale presenza di isolate e lunghe radici. Si prelevano casualmente, da punti diversi e distanti tra loro, almeno 4 porzioni di radici nella metà prossimale dell'apparato radicale e 4 porzioni nella metà distale. A partire dalla base di ogni porzione di radice recisa, si contano, senza alcuna esclusione, i primi 50 apici radicali separandoli in:

- 1) micorrizzati dalla specie di tartufo inoculato;

- 2) micorrizati da altri tartufi, se presenti;
- 3) micorrizati da altri funghi, se presenti;
- 4) non micorrizati.

Si calcolano, per ciascun settore e per l'intera pianta, le percentuali degli apici micorrizati dalla specie di tartufo inoculato, degli apici micorrizati da altri tartufi, degli apici micorrizati da altri funghi e di quelli privi di micorrize, riferite al totale degli apici contati; i dati analitici vanno riportati nella scheda di valutazione. Le schede sono conservate agli atti dell'azienda produttrice, a disposizione dell'ente certificante.

Ai fini dell'idoneità del lotto è inoltre necessario che tutte le piante risultino micorrizzate con il tartufo inoculato e che almeno l'80% di dette piante ricada nei limiti previsti dal punto D) del presente allegato.

H) INSERIMENTO DEI DATI NEL REGISTRO DELLE PIANTE CERTIFICATE

La registrazione dei dati di cui all'allegato VI, da riportare nei registri, deve essere effettuata nel più breve tempo possibile e comunque non oltre una settimana dall'operazione o dall'acquisizione del dato.

I dati di cui all'allegato V possono essere riportati in un unico registro o in altri registri ufficiali, cartacei o informatici, presenti in azienda.

Detto registro deve essere conservato in azienda, a disposizione degli incaricati dei controlli.

I) CARATTERISTICHE DEL LABORATORIO E/O DEL TECNICO CERTIFICATORE

La verifica dei requisiti di idoneità delle piante micorrizzate con tartufo e la valutazione del grado di micorrizzazione devono essere attestate da un laboratorio o da un tecnico certificatore riconosciuti dal Servizio Fitosanitario, in condizioni di terzietà rispetto al richiedente la certificazione.

A tal fine deve essere presentata specifica richiesta, utilizzando l'apposita modulistica.

I laboratori e i tecnici certificatori, per poter essere riconosciuti, devono dimostrare di possedere conoscenze e professionalità tali da potere applicare il presente disciplinare; tale professionalità è valutata dal personale competente del Servizio Fitosanitario, che si riserva la facoltà di accettazione, sulla base del curriculum, di attestati relativi a corsi specifici e mediante apposito colloquio.