



MONSTERNEMINGSPROSEDURES

(Soos gewysig op 24 November 2022)

INHOUDSOPGAWE

1.	MONSTERNEMING VIR DIE ONDERSOEK NA NEMATODES	2
2.	MONSTERNEMING VIR ONDERSOEK VAN NETELBLAAR	2
3.	MONSTERNEMING VIR ONDERSOEK VAN ROLBLAAR GEASSOSIEERDE VIRUSSE	3
4.	MONSTERNEMING IN GAASHUISE, GLASHUISE EN TONNELS VIR ELISA ONDERSOEKE	4
5.	GROOTTE VAN MONSTERS	5

1. Monsterneming vir die ondersoek na nematodes

- 1.1 Wanneer grondmonsters vir die opsporing en identifikasie van *Xiphinema index* ingesamel word moet, waar moontlik, ook wortels ingesluit word.
- 1.2 Minstens 50 submonsters per hektaar word verspreid getrek tot op 'n diepte van 500mm met behulp van 'n graaf, of 'n grondboor met 'n deursnit van 20mm.
- 1.3 Meng aantal submonsters deeglik en voorsien 1 liter grond vir ontleding.
- 1.4 Monsters moet nie in 'n warm motor of in die son gelaat word nie.
- 1.5 Monsters moet versigtig hanteer word en binne 72 uur na monsterneming ingedien word.
- 1.6 Monsters moet in plastieksakke versamel word, duidelik geëtiketteer wees en moet vergesel gaan van alle inligting soos verlang.
- 1.7 Wortelmonsters word ter opvolging van visuele waarneming van enkele verdagte plante geneem.

2. Monsterneming vir ondersoek van netelblaar

- 2.1 Monsters word as volg versamel:
 - a) Gewone materiaal - 'n verteenwoordigende monster word geneem en verpoel soos voorgeskryf;
 - b) Verdagte materiaal - monsters word geneem van stokke wat visueel verdagte simptome toon. Elke stok word as 'n afsonderlike eenheid gemonster en getoets.
- 2.2 Blaarmonsters word ingesamel vanaf lote met 'n lootlengte van ten minste 100 mm. Insameling kan gedoen word solank die positiewe kontroleplante positief toets.
- 2.3 Insameling van blaarmonsters moet verkieslik gedurende die koeler periode van die dag geskied dit wil sê gedurende die vroeë oggend en tydens koel bewolkte dae.
- 2.4 'n Blaarmonster bestaan uit 2-3 klein, jong, sagte, ontwikkelende blaartjies per stok.
- 2.5 Monsters word dadelik in plastieksakkies in 'n koelsak verpak of in 'n koel plek gehou by 4°C en moet binne 72 uur na insameling ingehandig word vir ontleding.

- 2.6 Monsters word duidelik geëtiketteer en moet vergesel gaan van alle noodsaaklike inligting soos variëteit/kloon, rynommer, stoknommer, bloknommer, datum, eienaar en plaas.
- 2.7 Blaarmonsters word normaalweg binne 1 tot 3 dae vir wingerdnetelblaarvirus (GFLV) deur middel van ELISA getoets.
- 2.8 Dit mag geriefliker wees om die toetsblare op te berg voordat hulle deur middel van ELISA getoets word. Die volgende prosedure word dan aanbeveel:
 - a) Blare word vroeg in die oggend gepluk, in 'n koelsak gehou en so gou moontlik gemaal en daarna in 'n vrieskas geplaas.
 - b) Gevriesde blaarmonsters moet binne een maand getoets word.
 - c) Dit is uiters belangrik om 'n positiewe kontrole (blare van 'n bekende GFLV-besmette stok) saam met die ander monsters te vries. Die kontrole moet net soos die ander monsters behandel word. Die kontrole moet in elke toetsplaat duidelik positief opwys om die geldigheid van die toets te verseker.
- 2.9 Floeëmskraapsels van dormante winterlote: Gebruik een ryp loot basis van onderstokke of bostokke waar petiole nie meer beskikbaar is nie.

3. Monsterneming vir ondersoek van rolblaar geassosieerde virusse

- 3.1. Monsters word as volg ingesamel:
 - a) Gewone materiaal: 'n Verteenwoordigende monster word geneem en verpoel soos voorgeskryf in Paragraaf 6.2.
 - b) Verdagte materiaal: Monsters word geneem van stokke wat visueel verdagte simptome toon. Elke stok word as 'n afsonderlike eenheid gemonster en getoets.
- 3.2. Hierdie toets kan slegs gebruik word vir bostokke en onderstokvariëteite wat kruisings is van Vitis Vinifera, naamlik Jacques, 143 B, US 2-1 en US 8-7.
- 3.3. Tyd van insameling: **1 Maart - 31 Augustus**
- 3.4. Gebruik drie basis petiole by bostokke en onderstokke per plant.
- 3.5. Gebruik een ryp loot basis van onderstokke en bostokke waar petiole nie meer beskikbaar is nie.
- 3.6. Monsters kan saam verpoel word tot 'n maksimum van 12 plante per monster.
- 3.7. Versamel vars petiole van basisblare asook petiole van verdagte blare.

- 3.8. Plaas alle materiaal in plastieksakkies en hou verkoel by 4°C.
- 3.9. Handig sover moontlik dieselfde dag by laboratorium in.
- 3.10. Monsters moet duidelik gemerk wees met die volgende inligting: Variëteit/kloon; rynommer; vaknommer; stoknommer; bloknommer; datum; eienaar en plaas.
- 3.11. Verwerkte monsters in buffer kan dadelik getoets word of by -20°C gestoor word vir maksimum 3 maande.
- 3.12. Die positiewe en negatiewe kontroles moet in alle gevalle dieselfde hanteer word as die toetsmonsters om die geldigheid van die ELISA te verseker.

4. Monsterneming in gaashuise, glashuise en tunnels vir ELISA ondersoeke

4.1 Netelblaar

- a) Wingerdnetelblaarvirus kan slegs betroubaar opgespoor word indien die plante nie vir lang periodes aan hoë temperature (> 25°C) blootgestel was nie. Om hierdie rede is die tyd van monsterneming baie kritiek.
- b) Monsterneming na **15 Desember** kan slegs onderneem word indien die temperature binne die gaashuis of tunnel tussen 20-25°C gehandhaaf word.
- c) Slegs jong aktiefgroeiende blare moet ingesamel word.
- d) As alternatief kan floeëmskraapsels van dormante winterlote gebruik word: Gebruik een ryp loot basis van onderstokke of bostokke waar petiole nie meer beskikbaar is nie.

4.2 Rolblaar geassosieëde virusse

- a) Hierdie toets kan slegs gebruik word vir bostok variëteite asook onderstok variëteite wat kruisings is van *Vitis vinifera* naamlik: Jacques, 143 B, US 8-7 en US 2-1.
- b) Tyd van insameling: **1 Maart – 31 Augustus**
- c) Vir die insameling van plantmateriaal kan petiole gebruik word indien beskikbaar.
- d) Versamel vars petiole van basisblare asook petiole van verdagte blare.
- e) Versamel drie basis petiole per plant vir bostokke en onderstokke.

- f) Gebruik een ryp loot basis van onderstokke en bostokke waar petiole nie meer beskikbaar is nie.
- g) Tydens insameling van wintermateriaal, kan daar ook van die bas gebruik word vir toetse.
- h) Monsters kan verpoel word tot 'n maksimum van 12 plante per monster.
- i) Plaas alle materiaal in plastieksakkies en hou verkoel by 4°C.
- j) Handig sover moontlik dieselfde dag by laboratorium in.
- k) Monsters moet duidelik gemerk wees met al die nodige inligting.
- l) Verwerkte monsters in buffer kan dadelik getoets word of by -20°C geberg word vir maksimum 3 maande.
- m) Die positiewe en negatiewe kontroles moet in alle gevalle dieselfde hanteer word as die toetsmonsters om die geldigheid van die ELISA te verseker.

5. GROOTTE VAN MONSTERS

5.1 Netelblaar

Eenheid	Monster	Toets
Kernblok	Stok-vir-stok	Stok-vir-stok
Grondves: Glashuis	Stok-vir-stok	Verpoel tot 12 stokke
Grondves: Veld	Stok-vir-stok	Verpoel tot 12 stokke
Moederblokke	5% statistiese basis (1 uit elke 20 stokke)	Verpoel tot 12 stokke

5.2 Rolblaar

Eenheid	Monster	Toets
Kernblok	Stok-vir-stok	Stok-vir-stok
Grondves: Glashuis	Stok-vir-stok	Verpoel tot 12 stokke
Grondves: Veld	Stok-vir-stok	Verpoel tot 12 stokke
Moederblokke	Stok-vir-stok	Verpoel tot 12 stokke