

EQUALITAS S.r.l		Verificato da / Verified by: DT	Approvato da / Approved by: DT
		IOP004_EQ_000_20230721	
		PAG 1 DI 2	

## ISTRUZIONE OPERATIVA SUL CAMPIONAMENTO DEL SUOLO PER LA CORRETTA DETERMINAZIONE DELLA BIODIVERSITÀ DEI SUOLI APPLICANDO L'APPROCCIO MOLECOLARE DNA METABARCODING

### 1. SCOPO

Descrivere le modalità di campionamento e trasporto dei campioni di terreno per la corretta determinazione della biodiversità dei suoli applicando l'approccio molecolare DNA metabarcoding.

L'approccio prevede il prelievo di un campione di suolo omogeneo rappresentativo del campo in oggetto di esame, evitando la parte superficiale di circa 1-2 cm. La quantità di campione prevista è di circa 2 kg di suolo.

Tale campionamento mira a:

- caratterizzare gli animali presenti nei suoli, in particolare gli insetti e gli altri artropodi edafici;
- definire la loro biodiversità.

### 2. MATERIALI

I materiali da utilizzare sono:

- Carotatore: Uno strumento di prelievo del suolo, composto da un cilindro (diametro interno tra 2 – 5 cm e lunghezza di 27 – 30 cm) con delle maniglie per girare lo strumento;
- un setaccio a maglia di metallo con aperture tra 2 - 4 mm;
- uno strumento di misura (metro, bindella, bastone misurato di un metro);
- sacchetti di plastica;
- guanti;
- matita, fogli;
- scatole di polistirolo;
- scatola di cartone;
- siberine ghiaccio (o buste di cryogel o ghiaccio secco se sono disponibili).

### 3. PROCEDIMENTO

Sono da considerare i seguenti passaggi:

- scelta del sito;
- scelta dello schema di prelievo;
- scelta del periodo;
- prelievo del campione;
- imballaggio dei campioni prelevati.

#### 3.1. SCELTA DEL SITO

Occorre riferirsi a un'area omogenea per pendenza, esposizione e grado di copertura del suolo; si dovrà dunque classificare il campo tenendo conto della presente definizione per stabilire quanti campionamenti occorre effettuare. All'interno delle aree omogenee dovrà essere prelevato un campione.

EQUALITAS S.r.l.		Verificato da / Verified by: DT	Approvato da / Approved by: DT
		IOP004_EQ_000_20230721	
		PAG 2 DI 2	

### 3.2. SELEZIONARE IL TRANSETTO

Il Transetto rappresenta una linea di 10 punti nel centro del campo (zona omogenea campionata); la distanza è di 1 m da un punto al altro.

Ci si posiziona nel centro del campo (zona omogenea). Dal punto selezionato si segnalano 5 punti a destra e 5 punti a sinistra con distanza di 1 m (in totale 10 punti). Si consiglia di seguire la pendenza del campo (se presente) per consentire la raccolta dei campioni ripresentanti sufficientemente.

### 3.3. IL PERIODO DI CAMPIONAMENTO

Si può procedere con il campionamento durante tutto l'anno, prediligendo comunque il periodo di fine primavera e fine autunno, evitando di operare a ridosso degli eventi di massima piovosità e/o siccità e di lavorazioni che provocano disturbo nel suolo. Nel caso si verificassero queste condizioni limitanti è necessario far trascorrere un tempo di attesa di circa 15 giorni prima di procedere al campionamento.

### 3.4. PRELIEVO DEL CAMPIONE

Con l'uso del carotatore, si raccolgono i 10 cores di suolo in un sacchetto pulito. Se il campo è ricco di materiale vegetale, si può rimuovere manualmente il materiale vegetale superficiale nel punto di campionamento per facilitare il processo, evitando di rimuovere le radici o il terreno.

Su un sacchetto di plastica pulito, si fa passare tutto il terreno raccolto attraverso il setaccio, usando le mani per distruggere i grumi o i frammenti di terreno. È necessario usare sempre guanti puliti e non toccare il terreno con le mani nude.

Con il terreno setacciato e miscelato bene, viene riempito un sacchetto pulito con quantità di 2 kg circa. Il campione preparato va conservato in frigo (o meglio un freezer fino a -20 °C) fino al momento della spedizione.

### 3.5. SPEDIZIONE DEI CAMPIONI PRELEVATI

Al momento della spedizione, il campione va inserito nella scatola di polistirolo con il ghiaccio, e tutto il pacchetto di polistirolo va sigillato con lo scotch. Sopra va attaccato un foglio con le informazioni del sito e la data del campionamento. La scatola di polistirolo va messa in una scatola di cartone nella scatola, chiusa con scotch.

La consegna dei campioni al laboratorio deve avvenire, che sia effettuata direttamente oppure a mezzo di corriere espresso, al massimo entro le 48 ore dal prelievo per garantire il ricevimento del campione fresco.

## 4. RACCOMANDAZIONI

Si raccomanda:

- La sterilizzazione: prima di effettuare il campionamento, il carotatore e il setaccio devono essere sterilizzati con la candeggina diluita in acqua, anche tra i diversi transetti (se ci sono più transetti o campi). Il carotatore non deve essere sterilizzato tra i 10 punti sullo stesso transetto.
- Usare sempre i guanti (meglio quelli sterilizzati) per diminuire la contaminazione.
- È indispensabile non lasciare il sacchetto sotto i raggi diretti del sole per lungo tempo e non comprimerlo in alcun modo.