

Tento dokument slouží výhradně k informačním účelům a nemá žádný právní účinek. Orgány a instituce Evropské unie nenesou za jeho obsah žádnou odpovědnost. Závazná znění příslušných právních předpisů, včetně jejich právních východisek a odůvodnění, jsou zveřejněna v Úředním věstníku Evropské unie a jsou k dispozici v databázi EUR-Lex. Tato úřední znění jsou přímo dostupná přes odkazy uvedené v tomto dokumentu

► **B**

**PROVÁDĚCÍ NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) 2022/1195**

ze dne 11. července 2022,

kterým se stanoví opatření k eradikaci a prevenci šíření organismu *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival

(Úř. věst. L 185, 12.7.2022, s. 65)

Ve znění:

		Úřední věstník		
		Č.	Strana	Datum
► <b><u>M1</u></b>	Prováděcí nařízení Komise (EU) 2024/2382 ze dne 9. září 2024	L 2382	1	10.9.2024



## PROVÁDĚCÍ NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) 2022/1195

ze dne 11. července 2022,

kterým se stanoví opatření k eradikaci a prevenci šíření organismu  
*Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival

### Článek 1

#### Předmět

Tímto nařízením se stanoví opatření pro účely eradikace organismu *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival a prevence jeho šíření na území Unie.

### Článek 2

#### Definice

Pro účely tohoto nařízení se použijí tyto definice:

- 1) „dotčeným škodlivým organismem“ se rozumí *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival;
- 2) „dotčenými rostlinami“ se rozumí rostliny *Solanum tuberosum* L., kromě semen.

### Článek 3

#### Průzkumy a laboratorní testy dotčeného škodlivého organismu

1. Příslušné orgány provedou každoroční průzkumy založené na posouzení rizik za účelem zjištění výskytu dotčeného škodlivého organismu, a to alespoň vizuální prohlídkou hlíz na stanovištích produkce, kde jsou dotčené rostliny pěstovány nebo skladovány.

2. V případě podezření na napadení dotčených rostlin dotčeným škodlivým organismem se odeberou vzorky, které se pomocí metod stanovených v příloze I testují na přítomnost dotčeného škodlivého organismu.

3. Do 30. dubna každého roku předloží členské státy Komisi a ostatním členským státům zprávu o výsledcích průzkumů uvedených v odstavci 1, které byly provedeny v předchozím roce. Tyto výsledky oznámí členské státy v souladu s šablonou stanovenou v příloze II.

### Článek 4

#### Označení zamořených stanovišť produkce a napadených dotčených rostlin

1. Příslušné orgány označí stanoviště produkce jako zamořené dotčeným škodlivým organismem, jestliže byl výskyt dotčeného škodlivého organismu na uvedeném stanovišti úředně potvrzen testy uvedenými v čl. 3 odst. 2.

**▼ M1**

Pozemky vymezené příslušnými orgány jako zamořené v souladu s čl. 2 odst. 1 směrnice 69/464/EHS před 1. lednem 2022 se považují za označené jako zamořená stanoviště produkce.

**▼ B**

2. Dotčené rostliny pěstované na stanovišti produkce označeném jako zamořené dotčeným škodlivým organismem nebo ty, které byly v kontaktu se zemínou, v níž byl dotčený škodlivý organismus zjištěn, se úředně označí jako napadené.

*Článek 5***Stanovení vymezených území**

1. Pokud je výskyt dotčeného škodlivého organismu úředně potvrzen, příslušné orgány neprodleně vymezí území v souladu s odstavcem 2. Pomocí metod stanovených v bodě 5 přílohy I určí patotyp.

2. Vymezené území sestává:

a) ze zamořené zóny, která zahrnuje alespoň stanoviště produkce označené jako zamořené, a

b) z nárazníkové zóny obklopující zamořenou zónu.

Vymezení nárazníkové zóny uvedené v prvním pododstavci písm. b) je založeno na spolehlivých vědeckých zásadách, biologii dotčeného škodlivého organismu, stupni zamoření, rozšíření a četnosti pěstování dotčených rostlin v dotčené oblasti, environmentálních a zeměpisných podmínkách, jakož i na specifickém riziku šíření trvalých spor.

3. Příslušné orgány provedou vhodná šetření s cílem určit původ napadení. Provedou vysledování dotčených rostlin spojených s případem daného napadení, včetně rostlin, které byly přemístěny ještě před stanovením vymezeného území.

4. Ve vymezeném území příslušné orgány zvyšují mezi profesionálními provozovateli povědomí o hrozbě dotčeného škodlivého organismu a o opatřeních přijatých k jeho eradikaci a k prevenci jeho šíření mimo uvedené území. Zajistí, aby byli profesionální provozovatelé informováni o stanovení vymezeného území, zamořené zóny a nárazníkové zóny a o ustanoveních tohoto nařízení.

*Článek 6***Eradikační opatření**

1. Dotčené rostliny, které pocházejí ze zamořené zóny, musí být zničeny nebo zpracovány za bezpečných podmínek, aby se zabránilo jakémukoli dalšímu šíření dotčeného škodlivého organismu. Pokud již není možné určit stanoviště produkce, z něhož napadené dotčené rostliny pocházejí, celá partie, v níž byly napadené dotčené rostliny zjištěny, se zničí nebo zpracuje za podmínek, které zabrání jakémukoli dalšímu šíření dotčeného škodlivého organismu.

**▼ B**

2. V zamořené zóně se uplatní všechna tato opatření:
  - a) nesmí se sázet, pěstovat ani skladovat žádné dotčené rostliny;
  - b) v půdě ani jinde se nesmí pěstovat ani skladovat žádné jiné rostliny určené k přesazení mimo zamořenou zónu;
  - c) před přemístěním nebo bezprostředně po přemístění ze zamořené zóny do nárazníkové zóny nebo mimo vymezené území se z rostlin jiných než rostliny uvedené v písmenech a) a b) vhodnými metodami odstraní zemina, aby se zajistilo, že nehrozí žádné zjistitelné riziko šíření dotčeného škodlivého organismu;
  - d) před přemístěním nebo bezprostředně po přemístění mimo zamořenou zónu a před vstupem na jakékoli stanoviště produkce nacházející se v nárazníkové zóně nebo mimo vymezené území se stroje očistí od zeminy a zbytků rostlin;
  - e) jakoukoliv zeminu nebo zbytky pocházející ze zamořené zóny lze přemísťovat a používat nebo ukládat mimo uvedenou zónu pouze za podmínek zajišťujících, že nehrozí žádné zjistitelné riziko šíření dotčeného škodlivého organismu;
3. rostliny jiné než uvedené v odst. 2 písm. a) a b), z nichž nebyla odstraněna zemina, lze přemísťovat mimo vymezené území pouze tehdy, jsou-li splněny tyto dvě podmínky:
  - a) jsou přepravovány za účelem odstranění zeminy z těchto rostlin vhodnými metodami zajišťujícími, že nehrozí žádné zjistitelné riziko šíření dotčeného škodlivého organismu;
  - b) přeprava a odstranění zeminy probíhá pod úředním dohledem a jsou zavedena vhodná opatření s cílem účinně zabránit šíření dotčeného škodlivého organismu.
4. Příslušné orgány zajistí, že:
  - a) v nárazníkové zóně se nepěstují žádné rostliny určené k přesazení mimo vymezené území;
  - b) v nárazníkové zóně se pěstují pouze dotčené rostliny náležející k odrůdě, která je rezistentní vůči patotypům dotčeného škodlivého organismu zjištěným v zamořené zóně nebo vůči všem patotypům, o nichž je známo, že se v jejich členském státě vyskytují, jak je stanoveno v článku 7, a jiné než pro produkci dotčených rostlin určených k pěstování a
  - c) jakákoliv zemina nebo zbytky pocházející z nárazníkové zóny jsou přemísťovány a používány nebo ukládány mimo vymezené území za podmínek zajišťujících, že nehrozí žádné zjistitelné riziko šíření dotčeného škodlivého organismu.

**▼B**

5. Členské státy oznámí tato opatření Komisi a ostatním členským státům ihned po jejich přijetí.

*Článek 7***Odrůdy bramboru rezistentní vůči patotypům dotčeného škodlivého organismu**

1. Odrůda bramboru se označí jako odrůda rezistentní vůči určitému patotypu dotčeného škodlivého organismu, pokud reaguje na kontaminaci patogenním původcem daného patotypu tak, že se netvoří žádné trvalé spory.

2. Testování na rezistenci se provádí v souladu s protokolem stanoveným v příloze III. Stupeň rezistence odrůd bramboru se kvantifikuje v souladu se standardní bodovací tabulkou uvedenou v příloze III.

3. Členské státy předají do 31. ledna každého roku Komisi a ostatním členským státům seznam všech nových odrůd bramboru, které v předchozím roce povolily k uvedení na trh a u kterých na základě testování podle odstavce 2 zjistily, že jsou rezistentní vůči dotčenému škodlivému organismu. Uvedou v něm odrůdy spolu s patotypy, vůči nimž jsou rezistentní, jakož i metodu, která byla použita ke stanovení této rezistence.

*Článek 8***Hlášení potvrzeného výskytu dotčeného škodlivého organismu na rezistentní odrůdě bramboru**

1. Profesionální provozovatelé a jakákoli jiná osoba, která zjistí jakékoli příznaky napadení dotčeným škodlivým organismem v důsledku ztráty nebo změny účinnosti rezistentní odrůdy bramboru, která souvisí s podezřením na změnu patotypu dotčeného škodlivého organismu nebo na nový patotyp, o tom uvědomí příslušné orgány.

2. Ve všech případech hlášených podle odstavce 1 příslušné orgány prošetří dotčený patotyp a s použitím metod stanovených v přílohách I a III potvrdí, zda je výskyt způsoben změnou patotypu dotčeného škodlivého organismu nebo novým patotypem.

3. Informace získané podle odstavců 1 a 2 příslušné orgány neprodleně zaznamenají.

Členské státy oznámí Komisi a ostatním členským státům do 31. ledna každého roku podrobnosti o potvrzeních učiněných podle odstavce 2 za předchozí rok.

*Článek 9***Zrušení opatření**

1. Příslušné orgány mohou zrušit opatření přijatá podle článku 6 týkající se vymezeného území, pokud se toto vymezené území stane prostým dotčeného škodlivého organismu v souladu s podmínkami stanovenými v příloze IV.

**▼B**

2. Po zrušení opatření podle odstavce 1 provedou příslušné orgány při sklizni prohlídku první úrody dotčených rostlin, které jsou vnímavé k příslušnému patotypu dotčeného škodlivého organismu. Až do ukončení zmíněné prohlídky se tato první úroda nesmí přemístit mimo vymezené území, jestliže se přemístění neprovádí pod dohledem příslušného orgánu.

3. Odchylně od odstavce 1 a po uplynutí alespoň deseti let od poslední detekce dotčeného škodlivého organismu v konkrétních částech zamořené zóny mohou příslušné orgány v souladu s bodem 2 přílohy IV částečně zrušit opatření použitelná v příslušných částech dotčených vymezených území.

4. Odchylně od čl. 6 odst. 2 písm. a), jsou-li splněny podmínky pro částečné zrušení opatření stanovených v článku 6, mohou být dotčené rostliny, které nejsou určeny k pěstování, pěstovány za předpokladu, že náleží k odrůdě, která je rezistentní vůči patotypům dotčeného škodlivého organismu zjištěným na zamořeném stanovišti produkce nebo vůči všem patotypům, o nichž je známo, že se v dotčeném členském státě vyskytují.

*Článek 10***Vstup v platnost**

Toto nařízení vstupuje v platnost třetím dnem po vyhlášení v *Úředním věstníku Evropské unie*.

Toto nařízení je závazné v celém rozsahu a přímo použitelné ve všech členských státech.



## PŘÍLOHA I

### Metody testování pro účely detekce a identifikace dotčeného škodlivého organismu podle čl. 3 odst. 2

#### 1. Testování pomocí spor

Pro účely detekce a identifikace se používají letní sporangia a trvalé spory, které se získávají prosévací metodou z půdy nebo přímo z rostlinného materiálu.

#### 2. Metody detekce

Pro účely extrakce spor dotčeného škodlivého organismu z půdy se použije jedna z těchto metod:

- a) prosévací metoda z půdy podle Pratt (1976) <sup>(1)</sup>;
- b) prosévací metoda z půdy podle van Leeuwen *et al.* (2005) <sup>(2)</sup>;
- c) zonální centrifugace pro vysokokapacitní zpracování vzorků podle Wander *et al.* (2007) <sup>(3)</sup>.

#### 3. Identifikační metody

Po extrakci se pro identifikaci spor dotčeného škodlivého organismu použije jedna z těchto metod:

- a) morfologická identifikace pod optickým mikroskopem se zvětšením 100–400x;
- b) konvenční test PCR s použitím primerů podle Lévesque *et al.* (2001) <sup>(4)</sup> a van den Boogert *et al.* (2005) <sup>(5)</sup>;
- c) test PCR v reálném čase s použitím primerů a sond podle van Gent-Pelzer *et al.* (2010) <sup>(6)</sup>;
- d) test PCR v reálném čase s použitím primerů a sond podle Smith *et al.* (2014) <sup>(7)</sup>.

<sup>(1)</sup> Pratt MA. 1976. A wet-sieving and flotation technique for the detection of resting sporangia of *Synchytrium endobioticum* in soil. *Annals of Applied Biology* 82: 21–29.

<sup>(2)</sup> van Leeuwen GCM, Wander JGN, Lamers J, Meffert JP, van den Boogert PHJF, Baayen RP. 2005. Direct examination of soil for sporangia of *Synchytrium endobioticum* using chloroform, calcium chloride and zinc sulphate as extraction reagents. *EPPO Bulletin* 35: 25–31.

<sup>(3)</sup> Wander JGN, van den Berg W, van den Boogert PHJF, Lamers JG, van Leeuwen GCM, Hendrickx G, Bonants P. 2007. A novel technique using the Hendrickx centrifuge for extracting winter sporangia of *Synchytrium endobioticum* from soil. *European Journal of Plant Pathology* 119: 165–174.

<sup>(4)</sup> Lévesque CA, de Jong SN, Ward LJ & de Boer SH (2001) Molecular phylogeny and detection of *Synchytrium endobioticum*, the causal agent of potato wart. *Canadian Journal of Plant Pathology* 23: 200–201.

<sup>(5)</sup> van den Boogert PHJF, van Gent-Pelzer MPE, Bonants PJM, de Boer SH, Wander JGN, Lévesque CA, van Leeuwen GCM, Baayen RP. 2005. Development of PCR-based detection methods for the quarantine phytopathogen *Synchytrium endobioticum*, causal agent of potato wart disease. *European Journal of Plant Pathology* 113: 47–57.

<sup>(6)</sup> van Gent-Pelzer MPE, Krijger M, Bonants PJM. 2010. Improved real-time PCR assay for the detection of the quarantine potato pathogen, *Synchytrium endobioticum*, in zonal centrifuge extracts from soil and in plants. *European Journal of Plant Pathology* 126: 129–133.

<sup>(7)</sup> Smith DS, Rocheleau H, Chapados JT, Abbott C, Ribero S, Redhead SA, Lévesque CA, De Boer SH. 2014. Phylogeny of the genus *Synchytrium* and the development of TaqMan PCR assay for sensitive detection of *Synchytrium endobioticum* in soil. *Phytopathology* 104: 422–432.

**▼ B****4. Životaschopnost trvalých spor**

Životaschopnost trvalých spor lze určit mikroskopickým vyšetřením nebo prostřednictvím biotestu. Životaschopnost sporangii lze určit mikroskopickým vyšetřením sporangii fixovaných v laktofenolu nebo ve vodě (Przetakiewicz 2015) <sup>(8)</sup>. Sporangia s granulovaným obsahem nebo s mírně zaobleným protoplastem lze považovat za životaschopná. Sporangia, u kterých došlo k plazmolýze, nebo sporangia bez zjevného obsahu se považují za mrtvá.

Alternativně nebo v případě pochybností lze provést biotest popsáný v bodě 3 přílohy IV.

**5. Stanovení patotypů**

Ke stanovení patotypů se použijí čerstvé nádory způsobené dotčeným škodlivým organismem.

Inokulum pro test se vytvoří jednou z těchto metod:

a) metoda SASA (Science and Advice for Scottish Agriculture) sestávající ze dvou následujících kroků:

i) vytvoření inokula

Staré (zhnědlé) nádory se rozdrtí na menší kousky a vysuší na vzduchu při pokojové teplotě, dokud neztvrdnou. Tvrdá tkáň musí být rozemleta buď ručně, nebo mechanicky.

Rozemletý materiál se za sucha proseje, přičemž se zachytává frakce od 25 do 75 µm, a následně se extrahuje chloroformovou metodou podle Pratt (1976) <sup>1)</sup>;

ii) vytvoření čerstvých nádorů

Povrch 10 ml sterilní destilované vody v malé plastové Petriho misce se posype přibližně 10 mg extrahovaných trvalých spor, které se inkubují v temnu při teplotě 20 °C až do vyklíčení.

Hlízy bramboru s malými klíčky o velikosti přibližně 1 až 2 mm se umístí do průhledných plastových krabic vyložených vlhkým savým papírem tak, aby označené klíčky směřovaly vzhůru. Klíček se obkrouží tekutou vazelinou, jež se aplikuje injekční stříkačkou. Vzniklý kroužek musí být neporušený a dostatečně vysoký, aby udržel sporovou suspenzi a nedocházelo k jejímu úniku.

10 ml klíčících trvalých spor se dále naředí sterilní vodou, aby vzniklo 20 ml sporové suspenze, která se pomocí pipety nebo stříkácí lahve pipetuje do vytvořených kroužků, dokud není klíček zcela ponořen. Plastové krabice se přikryjí víky a probíhá inkubace po dobu 4 dnů při teplotě 10 °C; poté se krabice otevrou, inokula a vazelinové kroužky se odstraní a krabice se přemístí do zmlžovaného skleníku s teplotou 15 až 18 °C (16 h světla);

b) metoda podle Spiekermann & Kothoff (1924) <sup>(9)</sup>;

<sup>(8)</sup> Przetakiewicz, J. 2015. The Viability of Winter Sporangia of *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. From Poland. *American Journal of Potato Research* 92: 704–708.

<sup>(9)</sup> Spiekermann A, Kothoff P. 1924. Testing potatoes for wart resistance. *Deutsche Landwirtschaftliche Presse* 51: 114–115.



▼ **B**

c) metoda podle Potoček *et al.* (1991) <sup>(10)</sup>;

d) metoda podle Glynne-Lemmerzahl (Glynne 1925 <sup>(11)</sup>; Lemmerzahl 1930 <sup>(12)</sup>; Noble a Glynne 1970 <sup>(13)</sup>).

Pro stanovení všech patotypů, o nichž je známo, že jsou pro Unii relevantní (1(D1), 2(G1), 6(O1), 18(T1) a 38(Nevşehir)), se použije diferenciační test rezistence, a to s různými odrůdami dotčené rostliny, jak jsou uvedeny v tabulce. Test rezistence se provádí podle protokolu uvedeného v písmenu d) (metoda podle Glynne-Lemmerzahl).

**Selektivní citlivost odrůd bramboru pro stanovení patotypů *S. endobioticum***

Odrůda	Patotypy <i>S. endobioticum</i>				
	1(D1)	2(G1)	6(O1)	18(T1)	38(Nevşehir)
Tomensa/Evora/ Deodara	S	S	S	S	S
Irga/Producent	R	S	S	S	S
Talent	R	R*	R*	S	S
Saphir	R	S	R	R	S
Ikar/Gawin/Karolin/ Belita	R	R	R	R	R

„S“: náchylná

„R“: rezistentní

\*: Označuje slabou náchylnost odrůdy k *S. endobioticum* („přítomnost ložisek neznekrotizovaných sori bez vytvořených nádorů“).

<sup>(10)</sup> Potoček J, Krajíčková K, Klabzubová S, Krejcar Z, Hnízdil M, Novák F, Perlová V. 1991. Identification of new *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. pathotypes in Czech Republic. *Ochrana Rostlin* 27: 191–205.

<sup>(11)</sup> Glynne MD. 1925. Infection experiments with wart disease of potatoes. *Synchytrium endobioticum*. *Annals of Applied Biology* 12: 34–60.

<sup>(12)</sup> Lemmerzahl J. 1930. A new simplified method for inoculation of potato cultivars to test for wart resistance. *Züchter* 2: 288–297.

<sup>(13)</sup> Noble M, Glynne MD. 1970. Wart disease of potatoes. *FAO Plant Protection Bulletin* 18: 125–135.

## PŘÍLOHA II

## Šablona pro průzkum podle článku 3

Šablona pro předkládání výsledků průzkumů týkajících se **rakoviny bramboru** provedených během kalendářního roku, který předchází roku, v němž se zpráva podává.

Tuto tabulku použijte pouze pro výsledky průzkumů týkajících se brambor sklizených ve vaší zemi.

Členský stát	Kategorie	Sklizená plocha (ha)	Vizuální prohlídka hlíz		Laboratorní testy		Počáteční rozloha zamořeného území <sup>(1)</sup> (ha)	Aktualizovaná rozloha zamořeného území <sup>(2)</sup> (ha)	Ohlašovací čísla nových nahlášených ohnisek, je-li to relevantní, v souladu s prováděcím nařízením (EU) 2019/1715	Další informace
			Počet partií	Počet podezřelých partií	Počet testovaných vzorků	Počet pozitivních vzorků				
	Hlízy bramboru určené k pěstování									
	Hlízy bramboru jiné než určené k pěstování									

<sup>(1)</sup> Celková rozloha zamořeného území před rokem, jehož se zpráva týká.

<sup>(2)</sup> Celková rozloha zamořeného území v roce, jehož se zpráva týká.



### PŘÍLOHA III

#### Protokol pro posouzení rezistence odrůdy podle čl. 7 odst. 2

Protokol pro posouzení rezistence odrůdy zahrnuje následující kroky.

- 1) Od každé odrůdy dotčené rostliny se testuje alespoň 40 hlíz nebo segmentů hlíz obsahujících očka, které se rozdělí do dvou skupin (opakování).
- 2) Test obvykle trvá dva roky. Pouze pokud se prokáže, že je odrůda k patotypu dotčeného škodlivého organismu silně náchylná, lze délku testu zkrátit na jeden rok.
- 3) Před začátkem období testování se pomocí metod popsanych v příloze I testuje čistota inokula.
- 4) Test musí vždy obsahovat pozitivní kontrolu v podobě odrůdy dotčené rostliny, která je silně náchylná k patotypu dotčeného škodlivého organismu, který má být testován.
- 5) Použije se jedna z těchto testovacích metod:
  - i) metoda Glynne-Lemmerzahl (Glynne 1925, Lemmerzahl 1930, Noble & Glynne 1970);
  - ii) metoda Spieckermann (Spieckermann & Kothoff 1924) nebo
  - iii) metoda SASA (Science and Advice for Scottish Agriculture) sestávající ze všech následujících kroků:

— příprava hlízy:

Hlízy se vyjmou z chladírenského skladu přibližně 10 dní před plánovanou inokulací, jemně se omyjí, osuší a uskladní v temnu při pokojové teplotě, aby se vyvolalo klíčení.

Při každé inokulaci musí být pro účely pozitivní kontroly použita také vysoce náchylná odrůda („Morene“ nebo srovnatelně náchylná odrůda),

— klíčení trvalých spor:

Podmínky pro vyvolání klíčení trvalých spor je třeba nastavit na 21 dní před inokulací.

Povrch 10 ml sterilní destilované vody v malé plastové Petriho misce se posype přibližně 10 mg extrahovaných spor, které se inkubují v temnu při teplotě 20 °C až do vyklíčení.

Obsah každé Petriho misky určený k inokulaci se naředí dalšími 10 ml sterilní destilované vody,

— inokulace a inkubace klíčků:

jakmile klíčky dosáhnou velikosti 1 mm, obkrouží se tekutou vazelínou. Vazelínový kroužek musí být neporušený, aby udržel sporovou suspenzi a nedocházelo k jejímu úniku, a dostatečně vysoký, aby suspenze pokryla celý klíček.

Na každé hlíze se vytvoří kroužek kolem jednoho klíčku nebo kolem jedné skupinky klíčků.

Hlízy se umístí do plastových krabic vyložených vlhkým savým papírem tak, aby obkroužené klíčky směřovaly vzhůru.

**▼B**

Vazelínové kroužky se pomocí pipety nebo stříkací lahve plní sporovou suspenzí, dokud není klíček zcela ponořen.

Plastové krabice se přikryjí víky a v temnu a při teplotě 10 °C probíhá po dobu 4 dnů inkubace; poté se vazelínové kroužky odstraní a otevřené krabice se přemístí do pravidelně zmlžovaného skleníku (3krát denně po dobu 30 minut) s teplotou 15 až 18 °C.

Pokud se infekce nezdařila, například proto, že klíček uhnul nebo se nevyvinul, může být hlíza znovu testována na jiném klíčku,

— posuzování:

klíčky se vyšetří na infekci 28 dnů po inokulaci, a to pomocí stereo-mikroskopu se zvětšením 10–15x a optického mikroskopu.

Reakce s bodovým hodnocením 4 nebo 5, jak je uvedeno v tabulce, musí být pozorovány při pozitivní kontrole alespoň u 80 % hlíz. Alespoň jedna hlíza musí mít bodové hodnocení 5.

- 6) Všechny hlízy se posoudí a přidělí se jim bodové hodnocení podle míry rezistence v rozmezí od 1 do 5, jak je stanoveno v tabulce.
- 7) Každá testovaná odrůda se zařadí do určité rezistenční skupiny („vysoce rezistentní“, „rezistentní“, „slabě náchylná“ nebo „silně náchylná“) podle bodového hodnocení pozorovaného v rámci příslušné populace jednotlivých testovaných hlíz nebo segmentů hlíz obsahujících očka:
- i) odrůda se považuje za „vysoce rezistentní“, pokud všechny hlízy ve všech opakováních dosáhnou bodového hodnocení 1;
  - ii) odrůda se považuje za „rezistentní“, pokud všechny hlízy ve všech opakováních dosáhnou bodového hodnocení 1 až 3;
  - iii) odrůda se považuje za „slabě náchylnou“, pokud jedna nebo více hlíz dosáhnou bodového hodnocení 4 (pokud dosáhne bodového hodnocení 4 pouze jedna hlíza, může být test opakován, aby se vyloučila příměs v partii odrůdy);
  - iv) odrůda se považuje za „silně náchylnou“, pokud nejméně jedna hlíza v jednom opakování dosáhne bodového hodnocení 5.

**Standardní bodovací tabulka testovaných populací brambor**

Standardní bodové hodnocení	Rezistenční skupina	Popis rezistence	Popis
1	R1	Silně rezistentní	Raná obranná nektróza; žádná viditelná tvorba sorusu.
2	R1	Rezistentní	Pozdní obranná nektróza; tvorba sorusu je částečně zjevná, sori jsou nevyvinuté nebo znekrotizované před dozráním.
3	R2	Slabě rezistentní	Velmi pozdní obranná nektróza; vyvinul se jeden zralý sorus nebo ložiska sori, avšak zcela obklopené nektrózou; možné až pět letních neznekrotizovaných sori, zřetelná nektróza v ostatních částech téhož kusu hlízy. Žádná tvorba nádorů nebo trvalých spor.

▼ **B**

Standardní bodové hodnocení	Rezistenční skupina	Popis rezistence	Popis
			Při rozhodování mezi skupinou 3 a 4 může být nezbytné připravit tenké preparáty s infikovanou tkání: pokud nejsou přítomny trvalé spory, bodové hodnocení je 3.
4	S1	Slabě náchylné	<p>Rozptýlené infekce; sori nebo ložiska sori jsou neznekrotizované, je jich málo; pozdní nekróza může být přítomna v jiných místech infekce na klíčku; klíček může vykazovat mírné malformace (zbytnění). Jsou přítomna (zimní) trvalá sporangia.</p> <p>Při rozhodování mezi skupinou 3 a 4 může být nezbytné připravit tenké preparáty s infikovanou tkání: pokud jsou přítomny trvalé spory, bodové hodnocení je 4.</p>
5	S2	Silně náchylné	Vysoká hustota infekčních ložisek, řada zralých neznekrotizovaných sori a jejich ložisek, ložiska s vysokou hustotou neznekrotizovaných míst infekce, dominantní tvorba nádorů.

**▼B***PŘÍLOHA IV***Podmínky pro zrušení opatření podle článku 9****1. Podmínky pro zrušení opatření****▼M1**

- 1.1. Po uplynutí nejméně 50 let od poslední detekce dotčeného škodlivého organismu, pokud existuje nepřetržitý záznam o plodinách v zamořené zóně, který prokazuje, že ustanovení čl. 6 odst. 2 a 3 byla po celou dobu dodržována a že zamořená zóna nebyla využívána jako trvalé travní porosty.

Pokud byla zamořená zóna využívána jako trvalé travní porosty, mohou být opatření zrušena pouze tehdy, pokud nebyly zjištěny žádné příznaky napadení dotčeným škodlivým organismem ve vzorcích půdy, které byly odebrány podle schématu, jež má být použito k získání půdy pro testování, jak je stanoveno v bodě 1.2,

nebo

**▼B**

- 1.2. Po uplynutí nejméně 20 let od poslední detekce dotčeného škodlivého organismu, pokud existuje nepřetržitý záznam o plodinách, který prokazuje, že ustanovení čl. 6 odst. 2 a 3 byla po celou dobu dodržována a že zamořená zóna nebyla využívána jako trvalé travní porosty, a

— při dvou biotestech (jak je popsáno v bodě 3) náchylných odrůd bramboru nebyly zjištěny žádné příznaky napadení dotčeným škodlivým organismem nebo

— při jednom biotestu (jak je popsáno v bodě 3) náchylných odrůd bramboru nebyly zjištěny žádné příznaky napadení dotčeným škodlivým organismem a během přímého vyšetření půdy ze zamořené zóny, provedeného pod mikroskopem, po extrakci spor jednou z metod stanovených v bodě 2 přílohy I nebyly zjištěny žádné životaschopné trvalé spory.

Schéma, které má být použito k získání půdy pro testování, zahrnuje všechny tyto kroky:

— zamořená zóna se rozdělí na jednotky o rozloze 0,33 ha,

— z každé jednotky se v hloubce do 20 cm a rovnoměrně z celé plochy nebo ve skupinách podle známých zamořených ohnisek výskytu odebere 60 dílčích vzorků,

— dílčí vzorky se důkladně promíchají tak, aby se získaly 3 vzorky na hektar.

**2. Částečné zrušení opatření**

Po uplynutí nejméně 10 let od poslední detekce dotčeného škodlivého organismu v oblastech zamořené zóny lze v těchto oblastech zvážit částečné zrušení opatření podle článku 6, pokud je veden nepřetržitý záznam o plodinách, který prokazuje, že ustanovení čl. 6 odst. 2 a 3 byla po celou dobu dodržována a že zamořená zóna nebyla využívána jako trvalé travní porosty, a

- a) při dvou biotestech (jak je popsáno v bodě 3) náchylných odrůd bramboru nebyly zjištěny žádné příznaky napadení dotčeným škodlivým organismem nebo

**▼ B**

- b) při jednom biotestu (jak je popsáno v bodě 3) náchylných odrůd bramboru nebyly zjištěny žádné příznaky napadení dotčeným škodlivým organismem a během přímého vyšetření půdy ze zamořené zóny, provedeného pod mikroskopem, po extrakci spor jednou z metod stanovených v bodě 2 přílohy I bylo zjištěno méně než 5 životaschopných trvalých spor na gram půdy.

Schéma, které má být použito k získání půdy pro testování, zahrnuje všechny tyto kroky:

- zamořená zóna se rozdělí na jednotky o rozloze 0,33 ha,
- z každé jednotky se v hloubce do 20 cm a rovnoměrně z celé plochy nebo ve skupinách podle známých zamořených ohnisek výskytu odebere 60 dílčích vzorků,
- dílčí vzorky se důkladně promíchají tak, aby se získaly 3 vzorky na hektar.

Nejsou-li tyto podmínky splněny, může být částečné zrušení opatření znovu zváženo po uplynutí nejméně dvouleté čekací lhůty. Při určování délky této čekací lhůty členské státy zohlední úroveň napadení a/nebo počet zjištěných životaschopných spor.

### 3. Biotesty za účelem zrušení opatření

Několik hlíz dotčených rostlin se inkubuje v květináčích spolu s nejméně 5 l půdy při teplotě, vlhkosti a světelných podmínkách, které jsou příznivé pro růst brambor. Použije se odrůda, která je vysoce náchylná ke všem patotypům (např. Deodara, Evora, Morene, Tomensa, Maritiema, Arran Chief).

Jakmile dosáhnou výšky přibližně 60 cm, rostoucí rostliny bramboru se seřízou. Po přibližně 100 dnech se nově vytvořené hlízy vyšetří na přítomnost nádorů.

Test musí vždy obsahovat negativní kontrolu s použitím půdy prosté dotčeného škodlivého organismu a pozitivní kontrolu s použitím zamořené půdy. Test se považuje za platný, pokud se při pozitivní kontrole nádory v hlízách vytvoří a při negativní kontrole nevytvoří. Údaje o teplotě a vlhkosti ve skleníku se zaznamenávají. Nádory vytvořené ve zkušebních vzorcích se mikroskopicky vyšetří na přítomnost letních sporangií a/nebo trvalých spor.

Celý test se provede za podmínek zabráňujících jakémukoliv dalšímu šíření dotčeného škodlivého organismu.