

Šis tekstas yra skirtas tik informacijai ir teisinės galios neturi. Europos Sąjungos institucijos nėra teisiškai atsakingos už jo turinį. Autentiškos atitinkamų teisės aktų, įskaitant jų preambules, versijos skelbiamos Europos Sąjungos oficialiajame leidinyje ir pateikiamos svetainėje „EUR-Lex“. Oficialūs tekstai tiesiogiai pricinami naudojantis šiame dokumente pateikiamomis nuorodomis

► **B** KOMISIJOS ĮGYVENDINIMO REGLAMENTAS (ES) 2022/1195

2022 m. liepos 11 d.

kuriuo nustatomos *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival išnaikinimo ir plitimo prevencijos priemonės

(OL L 185, 2022 7 12, p. 65)

iš dalies keičiamas:

Oficialusis leidinys

| | Nr. | puslapis | data |
|--|--------|----------|-----------|
| ► M1 2024 m. rugsėjo 9 d. Komisijos įgyvendinimo reglamentas (ES) 2024/2382 | L 2382 | 1 | 2024 9 10 |

**KOMISIJOS ĮGYVENDINIMO REGLAMENTAS (ES) 2022/1195**

2022 m. liepos 11 d.

kuriuo nustatomos *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival išnaikinimo ir plitimo prevencijos priemonės*1 straipsnis***Dalykas**

Šiuo reglamentu nustatomos *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival išnaikinimo ir plitimo Sąjungos teritorijoje prevencijos priemonės.

*2 straipsnis***Apibrėžtys**

Šiame reglamente vartojamų sąvokų apibrėžtys:

- 1) nurodytasis kenkėjas – *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival;
- 2) nurodytieji augalai – *Solanum tuberosum* L. rūšies augalai, išskyrus jų sėklas.

*3 straipsnis***Nurodytojo kenkėjo stebėseną ir laboratoriniai tyrimai**

1. Kompetentingos institucijos kasmet vykdo rizika grindžiamą stebėseną dėl nurodytojo kenkėjo buvimo, bent apžiūredamos gumbus tose gamybos vietose, kuriose nurodytieji augalai auginami arba saugomi.
2. Įtarus, kad nurodytieji augalai užkrėsti nurodytojo kenkėju, imami ėminiai ir jie tiriami dėl nurodytojo kenkėjo buvimo, taikant I priede nustatytus metodus.
3. Ne vėliau kaip kiekvienų metų balandžio 30 d. valstybės narės praneša Komisijai ir kitoms valstybėms narėms apie ankstesniais metais vykdytos 1 dalyje nurodytos stebėsenos rezultatus. Tos stebėsenos rezultatus jos pateikia pagal II priede pateiktą šablono.

*4 straipsnis***Gamybos vietos dalių ir nurodytųjų augalų pripažinimas užkrėstais**

1. Kompetentingos institucijos pripažįsta gamybos vietos dalį užkrėsta nurodytojo kenkėju, jeigu nurodytojo kenkėjo buvimas toje gamybos vietos dalyje oficialiai patvirtinamas 3 straipsnio 2 dalyje nurodytais tyrimais.

▼ M1

Laukai, kuriuos kompetentingos institucijos pagal Direktyvos 69/464/EEB 2 straipsnio 1 dalį iki 2022 m. sausio 1 d. nustatė kaip užkrėstus, pripažįstami užkrėstomis gamybos vietos dalimis.

▼ B

2. Nurodytieji augalai, auginami toje gamybos vietos dalyje, kuri pripažinta užkrėsta nurodytoju kenkėju, arba turėję sąlytį su dirvožemiu, kuriame aptiktas nurodytasis kenkėjas, oficialiai pripažįstami užkrėstais.

*5 straipsnis***Demarkacinių zonų nustatymas**

1. Oficialiai patvirtinus nurodytojo kenkėjo buvimą, kompetentingos institucijos nedelsdamos nustato juo užkrėstos teritorijos ribas pagal 2 dalį. Taikydamos I priedo 5 punkte nustatytus metodus, jos nustato kenkėjo patotipą.

2. Demarkacinę zoną sudaro:

- a) užkrėsta zona, apimanti bent tą gamybos vietos dalį, kuri pripažinta užkrėsta, ir

- b) buferinė zona aplink užkrėstą zoną.

Pirmos pastraipos b punkte nurodytos buferinės zonos ribos nustatomos remiantis patikimais moksliniais principais, atsižvelgiant į nurodytojo kenkėjo biologines savybes, kenkėjo išplitimo lygį, nurodytųjų augalų paplitimą ir auginimo atitinkamoje teritorijoje dažnumą, aplinkos ir geografinės sąlygas, taip pat į specifinę ramybės būsenos sporų išplitimo riziką.

3. Kompetentingos institucijos atlieka atitinkamus tyrimus infekcijos kilmę nustatyti. Jos atseka nurodytuosius augalus, susijusius su atitinkamu infekcijos atveju, įskaitant tuos augalus, kurie buvo vežami iš vienos vietos į kitą prieš nustatant demarkacinę zoną.

4. Demarkacinėje zonoje kompetentingos institucijos didina profesionalių veiklos vykdytojų informuotumą apie nurodytojo kenkėjo keliamą grėsmę ir priimtas priemones, kuriomis siekiama jį išnaikinti ir neleisti jam išplisti už tos teritorijos ribų. Jos užtikrina, kad profesionalūs veiklos vykdytojai žinotų apie demarkacinės zonos, užkrėstos zonos ir buferinės zonos ribų nustatymą ir šio reglamento nuostatas.

*6 straipsnis***Išnaikinimo priemonės**

1. Nurodytieji augalai iš užkrėstos zonos sunaikinami arba perdirbami saugiomis sąlygomis, siekiant užkirsti kelią tolesniam nurodytojo kenkėjo išplitimui. Jei nebeįmanoma nustatyti gamybos vietos dalies, kuri yra užkrėstų nurodytųjų augalų kilmės vieta, visa partija, kurioje rasta užkrėstų nurodytųjų augalų, sunaikinama arba perdirbama tokiomis sąlygomis, kad būtų užkirstas kelias tolesniam nurodytojo kenkėjo išplitimui.

▼ B

2. Užkrėstoje zonoje taikomos visos šios priemonės:
 - a) nesodinami, neauginami ir nesaugomi nurodytieji augalai;
 - b) nei žemėje, nei kitoje terpėje neauginami ir nesaugomi kiti augalai, skirti persodinti už užkrėstos zonos ribų;
 - c) taikant atitinkamus metodus, kuriais užtikrinama, kad nebūtų realios nurodytojo kenkėjo išplitimo rizikos, nuo augalų, išskyrus nurodytuosius a ir b punktuose, pašalinamas dirvožemis, prieš išvežant juos iš užkrėstos zonos į buferinę zoną ar iš demarkacinės zonos arba iš karto po to;
 - d) iš mechanizmų išvalomas dirvožemis ir augalų liekanos prieš juos išvežant iš užkrėstos zonos arba prieš įvežant juos į bet kurią gamybos vietos dalį, esančią buferinėje zonoje arba už demarkacinės zonos ribų, arba iš karto po to;
 - e) bet koks dirvožemis ar liekanos iš užkrėstos zonos gali būti išvežami ir naudojami arba atiduodami saugoti už tos zonos ribų tik tokiomis sąlygomis, kuriomis užtikrinama, kad nebūtų realios nurodytojo kenkėjo išplitimo rizikos.
3. Augalai, išskyrus nurodytuosius 2 dalies a ir b punktuose, nuo kurių dirvožemis nepašalintas, gali būti išvežami iš demarkacinės zonos tik tuo atveju, jei laikomasi šių dviejų sąlygų:
 - a) jie vežami siekiant pašalinti dirvožemį nuo tų augalų taikant atitinkamus metodus, kuriais užtikrinama, kad nebūtų realios nurodytojo kenkėjo išplitimo rizikos;
 - b) dirvožemis vežamas ir pašalinamas vykdant oficialią priežiūrą ir taikomos atitinkamos priemonės siekiant veiksmingai užkirsti kelią nurodytojo kenkėjo išplitimui.
4. Kompetentinga institucija užtikrina, kad:
 - a) buferinėje zonoje nebūtų auginami augalai, skirti persodinti už demarkacinės zonos ribų;
 - b) buferinėje zonoje auginami tik užkrėstoje zonoje aptiktų patotipų nurodytajam kenkėjui arba visiems atitinkamoje valstybėje narėje nustatytiems patotipams atsparios veislės nurodytieji augalai, kaip numatyta 7 straipsnyje, išskyrus augalus, skirtus sodinti skirtiems nurodytiesiems augalams auginti, ir
 - c) bet koks dirvožemis ar liekanos iš buferinės zonos gali būti išvežami ir naudojami arba atiduodami saugoti už demarkacinės zonos ribų tik tokiomis sąlygomis, kuriomis užtikrinama, kad nebūtų realios nurodytojo kenkėjo išplitimo rizikos.

▼B

5. Valstybės narės praneša apie tas priemones Komisijai ir kitoms valstybėms narėms iš karto po to, kai jų imamasi.

*7 straipsnis***Tam tikrų patotipų nurodytajam kenkėjui atsparios bulvių veislės**

1. Bulvių veislė pripažįstama atsparia konkrečiau patotipo nurodytajam kenkėjui, jeigu ji reaguoja į užkrėtimą to patotipo ligos sukėlėju taip, kad nesusidaro ramybės būsenos sporų.

2. Atsparumas tiriamas pagal III priede nustatytą protokolą. Bulvių veislių atsparumo laipsnis kiekybiškai nustatomas pagal III priedo lentelėje išdėstytą standartinę balų skaičiavimo sistemą.

3. Ne vėliau kaip kiekvienų metų sausio 31 d. valstybės narės Komisijai ir kitoms valstybėms narėms pateikia visų naujų bulvių veislių, kuriomis jos leido prekiauti ankstesniais metais ir kurias jos, atlikusios 2 dalyje nurodytus tyrimus, pripažino atspariomis nurodytajam kenkėjui, sąrašą. Valstybės narės nurodo veisles ir patotipus, kuriems tos veislės yra atsparios, taip pat metodą, taikytą šiam atsparumui nustatyti.

*8 straipsnis***Pranešimas apie patvirtintą nurodytojo kenkėjo buvimą atsparios veislės bulvėse**

1. Profesionalūs veiklos vykdytojai ir bet kuris kitas asmuo, sužinojęs apie bet kokius nurodytojo kenkėjo sukeltus simptomus, atsiradusius dėl išnykusio arba sumažėjusio atsparios bulvių veislės atsparumo veiksmingumo, susijusio su įtariamu nurodytojo kenkėjo patotipo pasikeitimu arba nauju patotipu, praneša apie tai kompetentingoms institucijoms.

2. Visais atvejais, apie kuriuos pranešama pagal 1 dalį, kompetentingos institucijos tiria susijusį patotipą ir, taikydamos I ir III prieduose nustatytus metodus, patvirtina, ar nurodytojo kenkėjo buvimą lėmė jo patotipo pasikeitimas ar naujas patotipas.

3. Kompetentingos institucijos nedelsdamos užregistruoja pagal 1 ir 2 dalis gautą informaciją.

Ne vėliau kaip kiekvienų metų sausio 31 d. valstybės narės Komisijai ir kitoms valstybėms narėms pateikia išsamią informaciją apie ankstesniais metais pagal 2 dalį patvirtintus atvejus.

*9 straipsnis***Priemonių atšaukimas**

1. Kompetentingos institucijos gali atšaukti pagal 6 straipsnį priimtas priemones dėl demarkacinės zonos, jei toje demarkacinėje zonoje nebeaptinkama nurodytojo kenkėjo pagal IV priede nustatytas sąlygas.

▼B

2. Atšaukus priemones pagal 1 dalį, derliaus nuėmimo metu kompetentingos institucijos tikrina pirmuosius nurodytųjų augalų pasėlius, kurie yra jautrūs atitinkamo patotipo nurodytajam kenkėjui. Tie pirmieji pasėliai neišvežami iš demarkacinės zonos, kol neatliekamas tas patikrinimas, išskyrus tuos atvejus, kai jie vežami kontroliuojant kompetentingai institucijai.

3. Nukrypstant nuo 1 dalies ir praėjus ne mažiau kaip 10 metų nuo paskutinio nurodytojo kenkėjo aptikimo konkrečiose užkrėstos zonos dalyse atvejo, kompetentingos institucijos gali iš dalies atšaukti atitinkamose susijusių demarkacinių zonų dalyse taikomas priemones pagal IV priedo 2 punktą.

4. Nukrypstant nuo 6 straipsnio 2 dalies a punkto, jeigu tenkinamos 6 straipsnyje numatytų priemonių dalinio atšaukimo sąlygos, gali būti auginami sodinti neskirti nurodytieji augalai, jeigu tai yra užkrėstoje gamybos vietoje aptiktų patotipų nurodytajam kenkėjui arba visiems atitinkamoje valstybėje narė nustatytiems patotipams atspari veislė.

*10 straipsnis***Įsigaliojimas**

Šis reglamentas įsigalioja trečią dieną po jo paskelbimo *Europos Sąjungos oficialiajame leidinyje*.

Šis reglamentas privalomas visas ir tiesiogiai taikomas visose valstybėse narėse.

▼ **B***I PRIEDAS***3 straipsnio 2 dalyje nurodytojo kenkėjo aptikimo ir identifikavimo tyrimų metodai****1. Tyrimai naudojant sporas**

Nurodytajam kenkėjui aptikti ir identifikuoti naudojamos vasarinės sporangės ir ramybės būsenos sporos, kurios gaunamos išsijojant dirvožemį arba tiesiogiai iš augalinės medžiagos.

2. Aptikimo metodai

Nurodytojo kenkėjo sporoms išgauti iš dirvožemio taikomas vienas iš šių metodų:

- a) dirvožemio sijojimo metodas, kaip aprašyta Pratt (1976) ⁽¹⁾;
- b) dirvožemio sijojimo metodas, kaip aprašyta van Leeuwen *et al.* (2005) ⁽²⁾;
- c) zoninio centrifugavimo metodas dideliame ėminių apdorojimo našumui užtikrinti, kaip aprašyta Wander *et al.* (2007) ⁽³⁾.

3. Identifikavimo metodai

Išgavus nurodytojo kenkėjo sporas, jos identifikuojamos taikant vieną iš šių metodų:

- a) morfologinį identifikavimą, naudojant šviesos mikroskopą, kurio didinamoji galia – 100–400 kartų;
- b) paprastą polimerazės grandininę reakciją (PGR), naudojant pradmenis, remiantis Lévesque *et al.* (2001) ⁽⁴⁾ ir van den Boogert *et al.* (2005) ⁽⁵⁾;
- c) tikrąją PGR, naudojant pradmenis ir zondus, pagal van Gent-Pelzer *et al.* (2010) ⁽⁶⁾;
- d) tikrąją PGR, naudojant pradmenis ir zondus, pagal Smith *et al.* (2014) ⁽⁷⁾.

⁽¹⁾ 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: p. 21–29.

⁽²⁾ 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: p. 25–31.

⁽³⁾ 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: p. 165–174.

⁽⁴⁾ 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: p. 200–201.

⁽⁵⁾ 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: p. 47–57.

⁽⁶⁾ 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: p. 129–133.

⁽⁷⁾ 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: p. 422–432.

▼ B**4. Ramybės būsenos sporų gyvybingumas**

Ramybės būsenos sporų gyvybingumą galima nustatyti atliekant mikroskopinę analizę arba biologinį tyrimą. Sporangijų gyvybingumą galima nustatyti atliekant laktofenolyje arba vandenyje fiksuotų sporangijų mikroskopinę analizę (Przetakiewicz, 2015) ⁽⁸⁾. Sporangės, kurių turinys grūdėtas arba protoplazmos masė šiek tiek suapvalėjusi, galima laikyti gyvybingomis. Ilgą laiką plazmolizuotos sporangės arba sporangės, kurių turinio nesimato, laikomos žuvusiomis.

Kaip alternatyvų tyrimą arba kilus abejonėms, galima atlikti biologinį tyrimą, kaip aprašyta IV priedo 3 punkte.

5. Patotipų nustatymas

Patotipams nustatyti reikalingos šviežios išaugos.

Tyrimui skirtas inokuliatas ruošiamas taikant vieną iš šių metodų:

a) Škotijos žemės ūkio ministerijos Mokslo ir konsultacijų skyriaus (angl. *Science and Advice for Scottish Agriculture, SASA*) apibrėžtą metodą, kuris apima toliau nurodytus du etapus:

i) inokulianto ruošimas

Senas (parudavęs) išaugos audinys susmulkinamas ir džiovinamas kambario temperatūroje, kol sukietėja. Sukietėjęs audinys sumalamas rankiniu arba mechaniniu būdu.

Sumalta medžiaga sausiai išsijojama, surenkant 25–75 µm dydžio frakcijas, tada ruošiamas ekstraktas taikant Pratt (1976)¹ chloroformo metodą;

ii) šviežių išaugų ruošimas

Maždaug 10 mg išgautų ramybės būsenos sporų užbarstoma ant 10 ml steriliaus distiliuoto vandens mažoje plastikinėje Petri lėkštelėje ir inkubuojama tamsoje 20 °C temperatūroje, kol sporos pradeda dygti.

Bulvių gumbai, kurių daigai yra maždaug 1–2 mm ilgio, pažymėtais daigais į viršų dedami į skaidrias plastiko dėžes, išklotas drėgnu minkštuoju popieriumi. Naudojant švirktą, išlydytu vazelinu aplink daigus formuojamas žiedas. Vazelino žiedas yra vientisas ir pakankamai aukštas, kad iš jo neištekėtų sporų suspensija.

10 ml dygstančių ramybės būsenos sporų dar praskiedžiama steriliu vandeniu iki 20 ml ir suspensija pipete arba spaudžiamu buteliu lašinama į tuos žiedus, kol daigas visiškai panardinamas sporų suspensijoje. Plastiko dėžės uždengiamos dangčiais ir 4 paras inkubuojamos 10 °C temperatūroje, tada dėžės atidaromos, pašalinamas inokuliatas ir vazelino žiedai, o dėžės perkeliama į dulksna drėkinamą šiltnamį, kuriame palaikoma 15–18 °C temperatūra (16 h šviesos);

b) Spiekermann & Kothoff (1924) ⁽⁹⁾ metodą;

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

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

▼ **B**

c) Potoček *et al* (1991) ⁽¹⁰⁾ metodą;

d) Glynne-Lemmerzahl (Glynne 1925 ⁽¹¹⁾; Lemmerzahl 1930 ⁽¹²⁾; Noble ir Glynne 1970 ⁽¹³⁾) metodą.

Siekiant nustatyti visus patotipus, kurie aktualūs Sąjungai (1(D1), 2(G1), 6(O1), 18(T1) ir 38(Nevşehir), atliekamas diferencinis užkrėtimo tyrimas su įvairių veislių nurodytuju augalu, kaip nurodyta lentelėje. Užkrėtimo tyrimas atliekamas pagal d punkte nurodytą protokolą (Glynne-Lemmerzahl metodas).

Selektyvus bulvių veislių imlumas *S. endobioticum* patotipams nustatyti

| Veislė | <i>S. endobioticum</i> patotipai | | | | |
|----------------------------------|----------------------------------|-------|-------|--------|--------------|
| | 1(D1) | 2(G1) | 6(O1) | 18(T1) | 38(Nevşehir) |
| Tomensa / Evora / Deodara | I | I | I | I | I |
| Irga / Producent | A | I | I | I | I |
| Talent | A | A* | A* | I | I |
| Saphir | A | I | A | A | I |
| Ikar / Gawin / Karolin / B-elita | A | A | A | A | A |

„I“ – imli.

„A“ – atspari.

*: reiškia mažą veislės imlumą *S. endobioticum* (nenekrozuojantys audiniai su sorų telkiniais (angl. *sorus field*), bet išaugos nesusiformavusios).

⁽¹⁰⁾ 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: p. 191–205.

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

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

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

II PRIEDAS

3 straipsnyje nurodytas šablonas stebėsenos rezultatams pateikti

Šablonas **bulvių vėžio** stebėsenos kalendoriniais metais, einančiais prieš ataskaitinius metus, rezultatams pateikti.

Naudokite šią lentelę tik savo šalyje išaugintų bulvių stebėsenos rezultatams pateikti.

| Valstybė narė | Kategorija | Pasėlių plotas (ha) | Gumbų apžiūra | | Laboratoriniai tyrimai | | Pradinis užkrėstos zonos plotas ⁽¹⁾ (ha) | Atnaujintas užkrėstos zonos plotas ⁽²⁾ (ha) | Pranešimo numeriai, kai pranešama apie naujus protrūkius, jei taikytina, pagal Įgyvendinimo reglamentą (ES) 2019/1715 | Papildoma informacija |
|---------------|-----------------------------------|---------------------|------------------|---------------------------|-------------------------|--|---|--|---|-----------------------|
| | | | Partijų skaičius | Įtartinų partijų skaičius | Ištirtų ėminių skaičius | Ėminių, kurių tyrimo rezultatai teigiami, skaičius | | | | |
| | Bulvių sėkliniai gumbai | | | | | | | | | |
| | Bulvių gumbai, išskyrus sėklinius | | | | | | | | | |

⁽¹⁾ Bendras užkrėstos zonos ploto dydis metais, einančiais prieš metus, už kuriuos teikiama ataskaita.

⁽²⁾ Bendras užkrėstos zonos ploto dydis metais, už kuriuos teikiama ataskaita.



III PRIEDAS

7 straipsnio 2 dalyje nurodytos veislės atsparumo vertinimo protokolas

Veislės atsparumo vertinimo protokole numatomi toliau nurodyti etapai.

1. Ištiriama ne mažiau kaip 40 kiekvienos nurodytojo augalo veislės bulvės gumbų arba gumbo išpjovų su akute. Jie suskirstomi į dvi grupes (replikatų lėkšteles).
2. Tyrimas paprastai trunka dvejus metus. Tik tuo atveju, kai nustatoma, kad veislė yra itin imli atitinkamo patotipo nurodytajam kenkėjui, tyrimo trukmė galima sutrumpinti iki vieno metų.
3. Prieš pradėdant tyrimų sezoną, taikant I priede aprašytus metodus, tiriamas inokuliacijos grynumas.
4. Atliekant tyrimą, visada naudojama teigiama kontrolė – tiriamam atitinkamo patotipo nurodytajam kenkėjui itin imlios veislės nurodytasis augalas.
5. Taikomas vienas iš šių tyrimų metodų:

i) Glynne-Lemmerzahl metodas (Glynne 1925, Lemmerzahl, 1930, Noble ir Glynne 1970);

ii) Spieckermann (Spieckermann & Kothoff, 1924) metodas arba

iii) SASA (Science and Advice for Scottish Agriculture) metodas, kuris apima toliau nurodytus etapus:

— gumbų ruošimas

Gumbai perkeliama iš šaltojo sandėlio likus maždaug 10 dienų iki numatytos inokuliacijos, atsargiai nuplaunami, džiovunami ir laikomi tamsioje kambario temperatūroje, siekiant paskatinti dygimą.

Kiekvienos inokuliacijos metu kaip teigiama kontrolė naudojamos labai imlios veislės („Morene“ arba panašaus imlumo veislės) bulvės;

— ramybės būsenos sporų dygimas

Ramybės būsenos sporų dygimą skatinančios sąlygos sukuriama likus 21 dienai iki inokuliacijos.

Maždaug 10 mg išgautų sporų užbarstoma ant 10 ml sterilaus distiliuoto vandens mažose plastikinėse Petri lėkštelėse ir inkubuojama tamsioje 20 °C temperatūroje, kol sporos pradeda dygti.

Inokuliacijos tikslais kiekvienos Petri lėkštelės turinys praskiedžiamas įpilant dar 10 ml sterilaus distiliuoto vandens;

— daigų inokuliacija ir inkubavimas

Daigams išaugus iki 1 mm, aplink juos išlydytu vazelinu formuojamas žiedas. Vazelino žiedas yra vientisas, kad iš jo neištekėtų sporų suspensija, ir pakankamai aukštas, kad visas daigas būtų padengtas suspensija.

Ant kiekvieno gumbo vazelinu žiedas suformuojamas aplink vieną daigą arba vieną daigų grupę.

Gumbai žieduotais daigais į viršų dedami į plastiko dėžes, išklotas drėgnu minkštuoju popieriumi.

▼ B

Naudojant pipetę arba spaudžiamą butelį vazelino žiedai užpildomi sporų suspensija, kol daigas visiškai panardinamas joje.

Plastiko dėžės uždengiamos dangčiais ir 4 paras inkubuojamos 10 °C temperatūroje tamsoje, tada vazelino žiedai nuimami, o dėžės dedamos į šiltnamį, kuriame palaikoma 15–18 °C temperatūra ir dulksna periodiškai (30 min 3 kartus per parą) drėkinamas oras.

Jeigu užkrėtimas buvo nesėkmingas, pvz., dėl to, kad daigas supuvo arba nesivystė, galima atlikti tyrimą su kitu to paties gumbo daigu;

— vertinimas

Dėl infekcijos daigai tiriami praėjus 28 dienoms po inokuliacijos, naudojant stereomikroskopą, kurio didinamoji galia yra 10–15 kartų, ir šviesos mikroskopą.

Ant ne mažiau kaip 80 % gumbų, kurie naudojami kaip teigiamas kontrolė, turi būti matomos 4 arba 5 balais vertinamos reakcijos, kaip nurodyta lentelėje. Ant bent vieno gumbo turi būti matoma 5 balais vertinama reakcija.

6. Visi gumbai vertinami, ir balais nuo 1 iki 5, kaip nurodyta lentelėje, įvertinamas jų imlumas nurodytajam kenkėjui.
7. Kiekviena tirama veislė priskiriama atitinkamai atsparumo grupei („labai atspari“, „atspari“, „šiek tiek imli“ arba „itin imli“), atsižvelgiant į atitinkamoje tiriamų gumbų ar gumbo išpjovų su akute populiacijoje nustatytą vertinimo balais diapazoną:
 - i) veislė laikoma labai atsparia, jeigu visi gumbai visose replikatų lėkštelėse įvertinami 1 balu;
 - ii) veislė laikoma atsparia, jei visi gumbai visose replikatų lėkštelėse įvertinami 1–3 balais;
 - iii) veislė laikoma šiek tiek imlia, jei vienas ar keli gumbai įvertinami 4 balais (jei tik vienas gumbas įvertinamas 4 balais, tyrimą galima pakartoti, siekiant atmesti atitinkamos veislės partijos grynumo stokos galimybę);
 - iv) veislė laikoma itin imlia, jei bent vienas gumbas vienoje replikatų lėkštelėje įvertinamas 5 balais.

Standartinė balų skaičiavimo sistema tiriant bulves

| Standartinis balas | Atsparumo grupė | Atsparumo apibūdinimas | Aprašymas |
|--------------------|-----------------|------------------------|---|
| 1 | A1 | Itin atsparios | Ankstyvoji gynybinė nekrozė; nematyti susidariusių sorų. |
| 2 | A1 | Atsparios | Vėlyvoji gynybinė nekrozė; iš dalies matomi susidarę sorai, sorai nesubrendę arba nekrozuojantys iki subręstant. |
| 3 | A2 | Menkai atsparios | Labai vėlyva gynybinė nekrozė; brandus vienas soras arba susidarę sorų telkiniai, bet visiškai apsupti nekrozuojančių audinių; gali būti iki penkių nenekrozuojančių vasarinių sorų, aiški nekrozė kitose tos pačios gumbo dalies zonose. Nesiformuoja išaugos ir nėra ramybės būsenos sporų. |

▼ **B**

| Standartinis balas | Atsparumo grupė | Atsparumo apibūdinimas | Aprašymas |
|--------------------|-----------------|------------------------|--|
| | | | Siekiant nuspręsti, ar veislę reikėtų priskirti 3 ar 4 grupei, gali reikėti paruošti plonus užkrėsto audinio griežinėlius – jeigu nėra ramybės būsenos sporų, vertinama 3 balais. |
| 4 | I1 | Šiek tiek imlios | Pavieniai infekcijos židiniai; nenekrozuojantys sorai arba sorų telkiniai, nedidelis jų skaičius; vėlyvoji nekrozė gali būti matoma ant daigo kitose infekcijos zonose; daigas gali būti šiek tiek deformuotas (sustorėjęs). Yra ramybės būsenos (žieminių) sporangių. Siekiant nuspręsti, ar veislę reikėtų priskirti 3 ar 4 grupei, gali reikėti paruošti plonus užkrėsto audinio griežinėlius – jeigu yra ramybės būsenos sporų, vertinama 4 balais. |
| 5 | I2 | Itin imlios | Tankūs infekcijos židiniai, daug brandžių nekrozuojančių sorų ir sorų telkinių, telkiniai su tankiomis nenekrozuojančiomis infekcijos zonomis, dominuoja susiformavusios išaugos. |

▼ B*IV PRIEDAS***9 straipsnyje nurodytų priemonių atšaukimo sąlygos****1. Priemonių atšaukimo sąlygos****▼ M1**

- 1.1. Praėjus ne mažiau kaip 50 metų nuo paskutinio nurodytųjų kenkėjų aptikimo atvejo, jeigu nuosekliai registruojami pasėlių užkrėstoje zonoje duomenys rodo, kad visą laiką laikytasi 6 straipsnio 2 ir 3 dalių nuostatų ir kad užkrėsta zona nebuvo naudojama kaip daugiametė pieva.

Tais atvejais, kai užkrėsta zona buvo naudojama kaip daugiametė pieva, priemonės gali būti atšauktos tik tuo atveju, jei dirvožemio mėginiuose, kurie buvo paimti pagal 1.2 punkte nustatytą tyrimui skirtų dirvožemio ėminių ėmimo planą, nenustatyta užsikrėtimo nurodytaisiais kenkėjais požymių,

arba

▼ B

- 1.2. Praėjus ne mažiau kaip 20 metų nuo paskutinio nurodytojo kenkėjo aptikimo atvejo, jeigu nuosekliai registruojami pasėlių duomenys rodo, kad visą laiką laikytasi 6 straipsnio 2 ir 3 dalių nuostatų ir kad užkrėstoji zona nebuvo naudojama kaip daugiametė pieva, ir

— atlikus du biologinius tyrimus (kaip aprašyta 3 punkte) su imlių veislių bulvėmis, nenustatyta užsikrėtimo nurodytuju kenkėju požymių, arba

— atlikus vieną biologinį tyrimą (kaip aprašyta 3 punkte) su imlių veislių bulvėmis, nenustatyta užsikrėtimo nurodytuju kenkėju požymių, taip pat tiesiogiai mikroskopu apžiūrėjus užkrėstoje zonoje paimtą dirvožemio ėminį ir išgavus sporas pagal vieną iš I priedo 2 punkte nurodytų metodų, nerasta gyvybingų ramybės būsenos sporų.

Tyrimui skirtas dirvožemio ėminys imamas pagal planą, kuris apima visus šiuos etapus:

— užkrėsta zona padalijama į 0,33 ha dydžio sklypus,

— kiekviename sklype – tolygiai visame plote arba atsižvelgiant į žinomus infekcijos židinius – 20 cm gylyje imama 60 dirvožemio ėminių,

— ėminiai gerai sumaišomi taip, kad iš ėminių, paimtų viename hektare, būtų sudaryti 3 ėminiai.

2. Dalinis priemonių panaikinimas

Praėjus ne mažiau kaip 10 metų nuo paskutinio nurodytojo kenkėjo aptikimo atitinkamose užkrėstos zonos teritorijose atvejo, galima apsvarstyti galimybę atšaukti dalį 6 straipsnyje numatytų priemonių, jeigu nuosekliai registruojami pasėlių duomenys rodo, kad visą laiką laikytasi 6 straipsnio 2 ir 3 dalių nuostatų ir kad užkrėstoji zona nebuvo naudojama kaip daugiametė pieva, ir

- a) atlikus du biologinius tyrimus, kaip aprašyta 3 punkte, su imlių veislių bulvėmis, nenustatyta užsikrėtimo nurodytuju kenkėju požymių, arba

▼ B

- b) atlikus vieną biologinį tyrimą, kaip aprašyta 3 punkte, su imlių veislių bulvėmis, nenustatyta užsikrėtimo nurodytuju kenkėju požymių, taip pat tiesiogiai mikroskopu apžiūrėjus užkrėstoje zonoje paimtą dirvožemio ėminį ir išgavus sporas pagal vieną iš I priedo 2 punkte nurodytų metodų, viename dirvožemio grame rasta mažiau nei penkios gyvybingos ramybės būsenos sporos.

Tyrimui skirtas dirvožemio ėminys imamas pagal planą, kuris apima visus šiuos etapus:

- užkrėsta zona padalijama į 0,33 ha dydžio sklypus,
- kiekviename sklype – tolygiai visame plote arba atsižvelgiant į žinomus infekcijos židinius – 20 cm gylyje imama 60 dirvožemio ėminių,
- ėminiai gerai sumaišomi taip, kad iš ėminių, paimtų viename hektare, būtų sudaryti 3 ėminiai.

Jeigu šios sąlygos netenkinamos, galimybę panaikinti dalį priemonių galima vėl apsvarstyti praėjus ne mažiau kaip 2 metų laukimo laikotarpiui. Nustatydamos to laukimo laikotarpio trukmę, valstybės narės atsižvelgia į kenkėjo išplitimo lygį ir (arba) aptiktų gyvybingų sporų skaičių.

3. Biologiniai tyrimai, kuriuos reikia atlikti siekiant, kad priemonės būtų atšauktos

Keli nurodytųjų augalų gumbai inkubuojami vazonuose su ne mažiau kaip 5 l dirvožemio, sudarius bulvių augimui palankias temperatūros, drėgmės ir šviesos sąlygas. Naudojama veislė, kuri yra labai imli visiems patotipams (pvz., „Deodara“, „Evora“, „Morene“, „Tomensa“, „Maritiema“, „Arran Head“).

Augantys bulvių augalai nupjaunami, kai jų aukštis siekia maždaug 60 cm. Praėjus maždaug 100 dienų, apžiūrima, ar ant naujai susiformavusių gumbų nėra išaugų.

Atliekant šį tyrimą, visada naudojama neigiama kontrolė – nurodytuju kenkėju neužkrėsto dirvožemio ėminiai ir teigiama kontrolė – užkrėsto dirvožemio ėminiai. Tyrimas laikomas galiojančiu, jei ant gumbų, kurie naudojami kaip teigiama kontrolė, susiformuoja išaugos, o ant gumbų, kurie naudojami kaip neigiama kontrolė, išaugos nesusiformuoja. Užregistruojamos temperatūros ir drėgmės sąlygos šiltnamyje. Mikroskopu apžiūrima, ar tirtuose ėminiuose susiformavusiose išaugose nėra vasarinių sporangių ir (arba) ramybės būsenos sporų.

Visas tyrimas atliekamas sąlygomis, kuriomis užtikrinama, kad nurodytasis kenkėjas toliau neplistų.