

Dokument ten służy wyłącznie do celów informacyjnych i nie ma mocy prawnej. Unijne instytucje nie ponoszą żadnej odpowiedzialności za jego treść. Autentyczne wersje odpowiednich aktów prawnych, włącznie z ich preambułami, zostały opublikowane w Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej i są dostępne na stronie EUR-Lex. Bezpośredni dostęp do tekstów urzędowych można uzyskać za pośrednictwem linków zawartych w dokumencie

► **B** **ROZPORZĄDZENIE WYKONAWCZE KOMISJI (UE) 2022/1195**
 z dnia 11 lipca 2022 r.
 ustanawiające środki w celu zwalczania i zapobiegania rozprzestrzenianiu się *Synchytrium*
 ***endobioticum* (Schilbersky) Percival**
 (Dz.U. L 185 z 12.7.2022, s. 65)

zmienione przez:

Dziennik Urzędowy

	nr	strona	data
► M1 Rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2024/2382 z dnia 9 września 2024 r.	L 2382	1	10.9.2024

**ROZPORZĄDZENIE WYKONAWCZE KOMISJI (UE) 2022/1195****z dnia 11 lipca 2022 r.****ustanawiające środki w celu zwalczania i zapobiegania rozprzestrzenianiu się *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival***Artykuł 1***Przedmiot**

W niniejszym rozporządzeniu określono środki mające na celu zwalczanie *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival oraz zapobieganie jego rozprzestrzenianiu się na terytorium Unii.

*Artykuł 2***Definicje**

Do celów niniejszego rozporządzenia stosuje się następujące definicje:

- 1) „określony agrofag” oznacza *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival;
- 2) „określone rośliny” oznaczają rośliny *Solanum tuberosum* L., inne niż nasiona.

*Artykuł 3***Kontrole i badania laboratoryjne określonego agrofaga**

1. Właściwe organy przeprowadzają coroczne, oparte na analizie ryzyka, kontrole występowania określonego agrofaga, co najmniej poprzez ocenę wizualną bulw w punktach produkcji, w których uprawia się lub przechowuje określone rośliny.
2. W przypadku podejrzenia zakażenia określonych roślin określonym agrofagiem nakazane jest pobrać próbki i przebadać je pod kątem występowania określonego agrofaga, korzystając z metod określonych w załączniku I.
3. Do dnia 30 kwietnia każdego roku państwa członkowskie zgłaszają Komisji i pozostałym państwom członkowskim wyniki kontroli, o których mowa w ust. 1, przeprowadzonych w poprzednim roku. Przekazywanie tych wyników odbywa się zgodnie ze wzorem określonym w załączniku II.

*Artykuł 4***Uznanie punktów produkcji za porażone i określonych roślin za zakażone**

1. Właściwe organy uznają punkt produkcji za porażony określonym agrofagiem, jeśli występowanie określonego agrofaga w tym punkcie potwierdzono urzędowo badaniami, o których mowa w art. 3 ust. 2.

▼ M1

Parcele odgraniczone przez właściwe organy jako zarażone zgodnie z art. 2 ust. 1 dyrektywy 69/464/EWG przed dniem 1 stycznia 2022 r. traktuje się jako uznane za porażone punkty produkcji.

▼ B

2. Określone rośliny uprawiane w punkcie produkcji uznanym za porażony określonym agrofagiem lub mające kontakt z glebą, w której stwierdzono występowanie określonego agrofaga, uznaje się urzędowo za zakażone.

*Artykuł 5***Ustanowienie obszarów wyznaczonych**

1. W przypadku gdy występowanie określonego agrofaga zostało urzędowo potwierdzone, właściwe organy bezzwłocznie wyznaczają obszar zgodnie z ust. 2. Określają patotyp, stosując metody określone w załączniku I pkt 5.

2. Obszar wyznaczony składa się ze:

- a) strefy porażenia obejmującej co najmniej punkt produkcji uznany za porażony oraz
- b) strefy buforowej otaczającej strefę porażenia.

Wytyczenie strefy buforowej, o której mowa w akapicie pierwszym lit. b), opiera się na rzetelnych zasadach naukowych, biologii określonego agrofaga, poziomie porażenia, rozmieszczeniu i częstotliwości upraw określonych roślin na danym obszarze, warunkach środowiskowych i geograficznych, a także na szczególnym ryzyku rozprzestrzeniania się zarodników przetrwalnikowych.

3. Właściwe organy przeprowadzają odpowiednie dochodzenia w celu zidentyfikowania źródła zakażenia. Identyfikują one określone rośliny związane z danym przypadkiem zakażenia, włącznie z tymi, które mogły zostać przemieszczone przed ustanowieniem obszaru wyznaczonego.

4. W obrębie obszaru wyznaczonego właściwe organy podnoszą świadomość podmiotów profesjonalnych na temat zagrożenia określonym agrofagiem oraz środków przyjętych w celu jego zwalczania i zapobiegania jego rozprzestrzenianiu się poza ten obszar. Zapewniają, aby podmioty profesjonalne były świadome granic obszaru wyznaczonego, strefy porażenia i strefy buforowej oraz przepisów niniejszego rozporządzenia.

*Artykuł 6***Środki zwalczania**

1. Określone rośliny pochodzące ze strefy porażenia niszczy się lub przetwarza w bezpiecznych warunkach, aby zapobiec dalszemu rozprzestrzenianiu się określonego agrofaga. Jeżeli nie jest możliwe ustalenie punktu produkcji, z którego pochodzą zakażone określone rośliny, całą partię, w której stwierdzono zakażone określone rośliny, niszczy się lub przetwarza w warunkach zapobiegających dalszemu rozprzestrzenianiu się określonego agrofaga.

▼ B

2. W strefie porażenia zastosowanie mają wszystkie poniższe środki:

- a) nie sadi się, nie uprawia ani nie przechowuje określonych roślin;
- b) nie uprawia się ani nie przechowuje żadnych innych roślin przeznaczonych do ponownego sadzenia poza strefą porażenia, zarówno w gruncie, jak i w innych miejscach;
- c) z roślin innych niż rośliny, o których mowa w lit. a) i b), usuwa się glebę, stosując odpowiednie metody zapewniające brak możliwości do zidentyfikowania ryzyka rozprzestrzenienia się określonego agrofaga, zanim rośliny te zostaną przemieszczone ze strefy porażenia do strefy buforowej lub poza obszar wyznaczony, lub natychmiast po tym fakcie;
- d) maszyny czyści się z gleby i pozostałości roślinnych przed wyprowadzeniem lub natychmiast po wyprowadzeniu ich ze strefy porażenia oraz przed wprowadzeniem do jakiegokolwiek punktu produkcji znajdującego się w strefie buforowej lub poza obszarem wyznaczonym;
- e) wszelką glebę lub pozostałości pochodzące ze strefy porażenia można przemieszczać i wykorzystywać lub składować poza tą strefą wyłącznie w warunkach zapewniających brak możliwości do zidentyfikowania ryzyka rozprzestrzenienia się określonego agrofaga.

3. Rośliny inne niż te, o których mowa w ust. 2 lit. a) i b), z których nie usunięto gleby, można przemieszczać poza obszar wyznaczony wyłącznie wówczas, gdy spełniono następujące dwa warunki:

- a) przewozi się je w celu usunięcia gleby z danych roślin za pomocą odpowiednich metod zapewniających brak możliwości do zidentyfikowania ryzyka rozprzestrzenienia się określonego agrofaga;
- b) transport i usuwanie gleby odbywają się pod nadzorem urzędowym, a także zastosowano odpowiednie środki, aby skutecznie zapobiec rozprzestrzenieniu się określonego agrofaga.

4. Właściwe organy zapewniają, aby:

- a) w strefie buforowej nie uprawiano roślin przeznaczonych do ponownego sadzenia poza obszar wyznaczony;
- b) w strefie buforowej uprawiano wyłącznie określone rośliny należące do odmiany odpornej na patotypy określonego agrofaga występującego w strefie porażenia lub na wszystkie patotypy, o których wiadomo, że występują w danym państwie członkowskim, zgodnie z art. 7, i nieprzeznaczone do produkcji określonych roślin przeznaczonych do sadzenia oraz
- c) wszelką glebę lub pozostałości pochodzące ze strefy buforowej przemieszczano i wykorzystywano lub składowano poza obszarem wyznaczonym w warunkach zapewniających brak możliwości do zidentyfikowania ryzyka rozprzestrzenienia się określonego agrofaga.

▼B

5. Państwa członkowskie powiadają o tych środkach Komisję i pozostałe państwa członkowskie niezwłocznie po ich podjęciu.

*Artykuł 7***Odmiany ziemniaka odporne na patotypy określonego agrofaga**

1. Odmianę ziemniaka uznaje się za odporną na określony patotyp określonego agrofaga, jeżeli reaguje ona na kontaminację patogenem tego patotypu w taki sposób, że nie dochodzi do wytworzenia zarodników przetrwalnikowych.

2. Przeprowadzanie testów pod kątem odporności odbywa się zgodnie z protokołem określonym w załączniku III. Stopień odporności odmian ziemniaka określa się ilościowo zgodnie ze standardową tabelą klasyfikacji przedstawioną w tabeli w załączniku III.

3. Państwa członkowskie co roku, do dnia 31 stycznia, przekazują Komisji i pozostałym państwom członkowskim wykaz wszystkich nowych odmian ziemniaków, które dopuszczono do obrotu w poprzednim roku i które na podstawie przeprowadzonych testów, o których mowa w ust. 2, uznano za odporne na określonego agrofaga. Podają odmiany wraz z patotypami, na które są one odporne, jak również metodę zastosowaną w celu określenia tej odporności.

*Artykuł 8***Powiadomienie o potwierdzonym występowaniu określonego agrofaga na odpornej odmianie ziemniaka**

1. Podmioty profesjonalne oraz wszelkie inne osoby, które dowiedziały się o jakichkolwiek objawach określonego agrofaga, wynikających z przełamania lub zmiany skuteczności odporności odmiany ziemniaka, co wiąże się z podejrzeniem zmiany patotypu określonego agrofaga lub nowego patotypu, powiadają o tym właściwe organy.

2. We wszystkich przypadkach zgłoszonych zgodnie z ust. 1 właściwe organy badają występujący patotyp i potwierdzają, stosując metody określone w załącznikach I i III, czy występowanie jest spowodowane zmianą patotypu określonego agrofaga, czy też nowym patotypem.

3. Właściwe organy niezwłocznie rejestrują informacje uzyskane zgodnie z ust. 1 i 2.

Do dnia 31 stycznia każdego roku państwa członkowskie zgłaszają Komisji i pozostałym państwom członkowskim szczegółowe informacje na temat potwierdzeń występowania dokonanych zgodnie z ust. 2 w odniesieniu do poprzedniego roku.

*Artykuł 9***Cofnięcie środków**

1. Właściwe organy mogą cofnąć środki wprowadzone na podstawie art. 6 dotyczące obszaru wyznaczonego, w przypadku gdy ten obszar wyznaczony stanie się wolny od określonego agrofaga zgodnie z warunkami określonymi w załączniku IV.

▼ B

2. Po cofnięciu środków zgodnie z ust. 1 właściwe organy przeprowadzają kontrolę podczas zbiorów pierwszej uprawy określonych roślin, które są podatne na odnośny patotyp określonego agrofaga. Pierwszy zbiór nie może być przemieszczany poza obszar wyznaczony do czasu zakończenia tej kontroli, chyba że przemieszczenie odbywa się pod kontrolą właściwego organu.

3. Na zasadzie odstępstwa od ust. 1 i po upływie co najmniej 10 lat od ostatniego wykrycia określonego agrofaga w określonych częściach strefy porażenia właściwe organy mogą częściowo cofnąć środki stosowane w odpowiednich częściach obszarów wyznaczonych, zgodnie z załącznikiem IV pkt 2.

4. Na zasadzie odstępstwa od art. 6 ust. 2 lit. a), gdy spełniono warunki częściowego cofnięcia środków przewidzianych w art. 6, można uprawiać określone rośliny nieprzeznaczone do sadzenia, pod warunkiem że należą one do odmiany odpornej na patotypy określonego agrofaga występującego w porażonym punkcie produkcji lub na wszystkie patotypy, o których wiadomo, że występują w danym państwie członkowskim.

*Artykuł 10***Wejście w życie**

Niniejsze rozporządzenie wchodzi w życie trzeciego dnia po jego opublikowaniu w *Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej*.

Niniejsze rozporządzenie wiąże w całości i jest bezpośrednio stosowane we wszystkich państwach członkowskich.



ZAŁĄCZNIK I

Metody przeprowadzania testów w celu wykrycia i identyfikacji określonego agrofaga, o których mowa w art. 3 ust. 2**1. Przeprowadzanie testów za pomocą zarodników**

W celu wykrywania i identyfikacji wykorzystuje się zarodnie letnie i zarodniki przetrwalnikowe, które uzyskuje się z gleby po przesianiu lub bezpośrednio z materiału roślinnego.

2. Metody wykrywania

W celu ekstrakcji z gleby zarodników określonego agrofaga stosuje się jedną z następujących metod:

- a) metoda przesiewania gleby opisana przez Pratt (1976) ⁽¹⁾;
- b) metoda przesiewania gleby opisana przez van Leeuwen *et al.* (2005) ⁽²⁾;
- c) technika wirowania warstwowego do wysokowydajnego testowania próbek opisana przez Wandera *et al.* (2007) ⁽³⁾.

3. Metody identyfikacji

Wyekstrahowane zarodniki określonego agrofaga identyfikuje się jedną z następujących metod:

- a) identyfikacja morfologiczna pod mikroskopem świetlnym przy powiększeniu 100–400x;
- b) konwencjonalny PCR z zastosowaniem starterów według Lévesque *et al.* (2001) ⁽⁴⁾ oraz van den Boogert *et al.* (2005) ⁽⁵⁾;
- c) PCR w czasie rzeczywistym z zastosowaniem starterów i sond według van Gent-Pelzer *et al.* (2010) ⁽⁶⁾;
- d) PCR w czasie rzeczywistym z zastosowaniem starterów i sond według 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* nr 82, s. 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* nr 35, s. 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* nr 119, s. 165–174.

⁽⁴⁾ Lévesque CA., de Jong SN., Ward LJ. i de Boer SH. (2001), „Molecular phylogeny and detection of *Synchytrium endobioticum*, the causal agent of potato wart”, *Canadian Journal of Plant Pathology* nr 23, s. 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* nr 113, s. 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* nr 126, s. 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* nr 104, s. 422–432.

▼ B**4. Żywotność zarodników przetrwalnikowych**

Żywotność zarodników przetrwalnikowych można określić za pomocą badania mikroskopowego lub testu biologicznego. Żywotność zarodników można określić za pomocą badania mikroskopowego zarodni umieszczonych w laktofenolu lub w wodzie (Przetakiewicz 2015) ⁽⁸⁾. Zarodnie z ziarnistą zawartością lub z protoplazmą lekko oddzieloną od ściany można uznać za żywe. Te, które uległy trwałej plazmolizie lub nie zawierają widocznej zawartości, uznaje się za martwe.

Alternatywnie lub w przypadku wątpliwości można przeprowadzić test biologiczny zgodnie z opisem w załączniku IV pkt 3.

5. Określanie patotypów

Do określenia patotypów potrzebne są świeże narośla.

Inokulum do badania przygotowuje się, stosując jedną z poniższych metod:

a) metodę SASA (Science and Advice for Scottish Agriculture), składającą się z dwóch następujących etapów:

(i) wytworzenie inokulum

Starą (brązową) tkankę naroślową dzieli się na mniejsze kawałki i suszy na powietrzu w temperaturze pokojowej, aż stanie się twarda. Twardą tkankę rozdrabnia się ręcznie albo mechanicznie.

Rozdrobniony materiał przesiewa się na sucho, zbierając frakcję od 25 do 75 µm, a następnie poddaje ekstrakcji metodą chloroformową według Pratt (1976)¹;

(ii) wytworzenie świeżych narośli

Około 10 mg wyekstrahowanych zarodników przetrwalnikowych rozsypuje się na powierzchni 10 ml sterylnej wody destylowanej na małej plastikowej płytce Petriego i inkubuje w ciemności w temperaturze 20 °C do momentu kiełkowania.

Bulwy ziemniaka z małymi kiełkami o długości około 1–2 mm umieszcza się w przezroczystych plastikowych pojemnikach wyłożonych wilgotną bibułą, z zaznaczonymi kiełkami skierowanymi do góry. Kiełki otacza się roztopioną wazeliną za pomocą strzykawki. Pierścień powinien być szczelny i na tyle wysoki, aby zawiesina zarodników nie przeciekała.

10 ml kiełkujących zarodników przetrwalnikowych rozcieńcza się dodatkowo do 20 ml sterylną wodą i umieszcza w pierścieniach za pomocą pipety lub wyciskanej butelki, aż kiełek będzie całkowicie zanurzony w zawieszynie zarodników. Plastikowe pojemniki przykrywa się pokrywkami i inkubuje przez 4 dni w temperaturze 10 °C, po czym otwiera się je, usuwa inokulum i pierścienie wazelinowe, a pojemniki przenosi do zraszanej szklami o temperaturze 15–18 °C (16 godzin światła);

b) metodę Spiekermanna i Kotthoffa (1924) ⁽⁹⁾;

⁽⁸⁾ Przetakiewicz J. (2015), „The Viability of Winter Sporangia of *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. from Poland.”, *American Journal of Potato Research* nr 92, s. 704–708.

⁽⁹⁾ Spiekermann A., Kotthoff P. (1924), „Testing potatoes for wart resistance”, *Deutsche Landwirtschaftliche Presse* nr 51, s. 114–115.

▼ B

c) metodę Potočka *et al.* (1991)⁽¹⁰⁾;

d) metodę Glynne-Lemmerzahl (Glynne 1925⁽¹¹⁾; Lemmerzahl 1930⁽¹²⁾; Noble i Glynne 1970⁽¹³⁾).

W celu określenia wszystkich patotypów, o których wiadomo, że są istotne dla Unii (1(D1), 2(G1), 6(O1), 18(T1) i 38(Nevşehir)), stosuje się test różniący na podstawie reakcji na zakażenie różnych odmian określonej rośliny, jak wskazano w tabeli. Test na zakażenie przeprowadza się zgodnie z protokołem wymienionym w lit. d) (metoda Glynne'a-Lemmerzahla).

Selektywna wrażliwość odmian ziemniaka w celu określania patotypów *S. endobioticum*

Odmiana uprawna	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”: Podatne

„R”: Odporne

*: Wskazuje na słabą podatność odmiany na *S. endobioticum* („występowanie pól zarodników nieotoczonych nekrozą, bez tworzenia się narośli”).

⁽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* nr 27, s. 191–205.

⁽¹¹⁾ Glynne MD. (1925), „Infection experiments with wart disease of potatoes. *Synchytrium endobioticum*”, *Annals of Applied Biology* nr 12, s. 34–60.

⁽¹²⁾ Lemmerzahl J. (1930), „A new simplified method for inoculation of potato cultivars to test for wart resistance”, *Züchter* nr 2, s. 288–297.

⁽¹³⁾ Noble M., Glynne MD. (1970), „Wart disease of potatoes”, *FAO Plant Protection Bulletin* nr 18, s. 125–135.

ZAŁĄCZNIK II

Wzór formularza kontroli, o którym mowa w art. 3

Wzór formularza do prezentowania wyników kontroli dotyczącej **raka ziemniaka** przeprowadzonej w roku kalendarzowym poprzedzającym rok sprawozdawczy.

Prosimy o korzystanie z niniejszej tabeli wyłącznie w odniesieniu do wyników kontroli dotyczących ziemniaków zbieranych w Państwa kraju.

Państwo członkowskie	Kategoria	Powierzchnia uprawy (ha)	Ocena wizualna bulw		Testy laboratoryjne		Początkowa wielkość porażonego obszaru ⁽¹⁾ (ha)	Zaktualizowana wielkość porażonego obszaru ⁽²⁾ (ha)	Numery powiadomień o nowych pojawach agrofagów przekazanych, w stosownych przypadkach, zgodnie z rozporządzeniem wykonawczym (UE) 2019/1715	Informacje dodatkowe
			Liczba partii	Liczba partii budzących podejrzenia	Liczba przebadanych próbek	Liczba próbek z wynikiem dodatnim				
	Sadzeniaki ziemniaka									
	Bulwy ziemniaka inne niż do sadzenia									

⁽¹⁾ Całkowita wielkość porażonego obszaru przed rokiem objętym sprawozdaniem.

⁽²⁾ Całkowita wielkość porażonego obszaru w roku objętym sprawozdaniem.

▼B*ZALĄCZNIK III***Protokół do oceny odporności odmiany, o którym mowa w art. 7 ust. 2**

Protokół do oceny odporności odmiany obejmuje następujące etapy.

- 1) Badaniu poddaje się co najmniej 40 bulw lub oczek z każdej odmiany określonej rośliny. Dzieli się je na dwie grupy (powtórzenia).
- 2) Test trwa z zasady dwa lata. Wyłącznie w przypadku, gdy dana odmiana okaże się krańcowo podatna na patotyp określonego agrofaga, czas trwania testu można skrócić do jednego roku.
- 3) Przed rozpoczęciem sezonu testów inokulum poddaje się badaniom pod kątem czystości, stosując metody opisane w załączniku I.
- 4) Test obejmuje zawsze kontrolę pozytywną w postaci odmiany określonej rośliny krańcowo podatnej na patotyp określonego agrofaga, który ma być poddawany testowi.
- 5) Stosuje się jedną z następujących metod przeprowadzania testów:
 - (i) metodę Glynne'a-Lemmerzahla (Glynne 1925, Lemmerzahl 1930, Noble i Glynne 1970);
 - (ii) metodę Spieckermanna (Spieckermann i Kotthoff 1924) lub
 - (iii) metodę SASA (Science and Advice for Scottish Agriculture), składającą się ze wszystkich następujących etapów:
 - przygotowanie bulw:

bulwy wyjmuje się z chłodni około 10 dni przed planowaną inokulacją, delikatnie myje, suszy i przechowuje w ciemności w temperaturze pokojowej w celu wywołania kiełkowania.

W każdej inokulacji uwzględnia się wysoce podatną odmianę („Morene” lub odmianę o porównywalnej podatności), aby służyła jako kontrola pozytywna;
 - kiełkowanie zarodników przetrwalnikowych:

warunki wywołujące kiełkowanie zarodników przetrwalnikowych stwarza się 21 dni przed inokulacją.

Około 10 mg wyekstrahowanych zarodników rozsypuje się na powierzchni 10 ml sterylnej wody destylowanej na małych plastikowych płytkach Petriego i inkubuje w ciemności w temperaturze 20 °C do momentu kiełkowania.

Zawartość każdej płytki Petriego rozcieńcza się kolejnymi 10 ml sterylnej wody destylowanej w celu wykonania inokulacji;
 - inokulacja i inkubacja kiełków:

gdy kiełki osiągną długość 1 mm, otacza się je roztopioną wazeliną. Pierścień wazelinowy powinien być szczelny, aby zawiesina zarodników nie przeciekała, i na tyle wysoki, aby zawiesina przykrywała kiełek.

Na każdej bulwie otacza się pojedynczy kiełek lub pojedyncze skupisko kiełków.

Bulwy umieszcza się w przezroczystych plastikowych pojemnikach wyłożonych wilgotną bibułą, z otoczonymi pierścieniem kiełkami skierowanymi do góry.

▼ B

Pierścienie wazelinowe wypełnia się zawiesiną zarodników za pomocą pipety lub wyciskanej butelki, aż kielek będzie całkowicie zanurzony.

Plastikowe pojemniki przykrywa się pokrywkami i inkubuje przez 4 dni w temperaturze 10 °C w ciemności, po czym usuwa się pierścienie wazelinowe, a otwarte pojemniki umieszcza się w szklarni o temperaturze 15–18 °C i okresowo zrasza (3 razy dziennie przez 30 min.).

W przypadkach gdy nie doszło do zakażenia, na przykład dlatego, że kielek zgnił lub nie rozwinął się, bulwę można poddać ponownemu badaniu, używając innego kielka;

— ocena:

kielki bada się pod kątem zakażenia 28 dni po inokulacji, używając mikroskopu stereoskopowego o powiększeniu 10–15x i mikroskopu świetlnego.

W kontroli pozytywnej, co najmniej 80 % bulw musi wykazać reakcję w stopniu 4 lub 5, jak określono w tabeli. Co najmniej jedna bulwa musi wykazać stopień 5.

- 6) Wszystkie bulwy ocenia się i klasyfikuje w rankingu odporności od 1 do 5, jak podano w tabeli.
- 7) Każdą badaną odmianę umieszcza się w grupie odporności („wysoko odporna”, „odporna”, „słabo podatna” lub „krańcowo podatna”) zgodnie z zakresem wyników zaobserwowanych w odpowiedniej populacji badanych pojedynczych bulw lub oczek:
- (i) odmianę uznaje się za „wysoko odporną”, jeśli wszystkie bulwy we wszystkich powtórzeniach uzyskały stopień 1;
 - (ii) odmianę uznaje się za „odporną”, jeśli wszystkie bulwy we wszystkich powtórzeniach uzyskały stopień 1–3;
 - (iii) odmianę uznaje się za „słabo podatną”, jeśli co najmniej jedna bulwa uzyska stopień 4 (jeżeli tylko jedna bulwa uzyska stopień 4, test można powtórzyć w celu wykluczenia domieszki innej odmiany w partii);
 - (iv) odmianę uznaje się za „krańcowo podatną”, jeśli co najmniej jedna bulwa w jednym powtórzeniu uzyska stopień 5.

Standardowa tabela klasyfikacji odporności testowanych populacji ziemniaków

Standardowy stopień	Grupa odporności	Opis odporności	Opis
1	R1	Krańcowo odporna	Wczesna nekroza obronna; brak widocznego tworzenia się sorusów.
2	R1	Odporna	Późna nekroza obronna; tworzenie się sorusów częściowo widoczne, zarodniki niedojrzałe lub nekrotyczne przed osiągnięciem dojrzałości.
3	R2	Słabo odporna	Bardzo późna nekroza obronna; pojedyncze dojrzałe sorusy lub pola sorusów rozwinięte, ale całkowicie otoczone nekrozą; dopuszcza się do pięciu nienekrotycznych sorusów letnich, wyraźna nekroza w innych strefach tego samego fragmentu bulwy. Nie tworzą się narośle ani zarodniki przetrwalnikowe.

▼ **B**

Standardowy stopień	Grupa odporności	Opis odporności	Opis
			Aby dokonać wyboru między stopniami 3 i 4, konieczne może być przygotowanie preparatów mikroskopowych z zainfekowanej tkanki: jeśli nie ma zarodników przetrwalnikowych, jest to stopień 3.
4	S1	Słabo podatna	Zakażenia rozproszone; sorusy lub pola sorusów nienekrotyczne, nieliczne; późna nekroza może występować w innych miejscach zakażenia na kielku; kielek może być lekko zniekształcony (zgrubiały). Obecne są zarodnie przetrwalnikowe (zimowe). Aby dokonać wyboru między stopniami 3 i 4, konieczne może być przygotowanie preparatów mikroskopowych z zainfekowanej tkanki: jeśli występują zarodniki przetrwalnikowe, jest to stopień 4.
5	S2	Krańcowo podatna	Gęste pola zakażenia, liczne dojrzałe, nienekrotyczne sorusy i pola sorusów, pola z gęstymi nienekrotycznymi miejscami zakażenia, powszechne tworzenie narośli.

▼B*ZAŁĄCZNIK IV***Warunki cofnięcia środków, o którym mowa w art. 9****1. Warunki cofnięcia środków****▼M1**

- 1.1. Po upływie co najmniej 50 lat od ostatniego wykrycia określonego agrofaga, jeśli istnieje pozbawiony luk rejestr upraw w strefie porażenia, z którego wynika, że przez cały ten czas przestrzegano przepisów art. 6 ust. 2 i 3 oraz że strefa porażenia nie była wykorzystywana jako trwałe użytki zielone.

Jeżeli strefa porażenia była wykorzystywana jako trwałe użytki zielone, środki mogą zostać cofnięte wyłącznie wtedy, gdy w próbkach gleby pobranych w wyniku zastosowania schematu pobierania gleby do testów określonego w pkt 1.2 nie stwierdzono żadnych oznak zakażenia określonym agrofagiem;

lub

▼B

- 1.2. Po upływie co najmniej 20 lat od ostatniego wykrycia określonego agrofaga, jeśli istnieje pozbawiony luk rejestr upraw, z którego wynika, że przez cały ten czas przestrzegano przepisów art. 6 ust. 2 i 3 oraz że strefa porażenia nie była wykorzystywana jako trwałe użytki zielone oraz

— w dwóch testach biologicznych (opisanych w pkt 3) przeprowadzonych na podatnych odmianach ziemniaka nie stwierdzono żadnych oznak zakażenia określonym agrofagiem lub

— w jednym teście biologicznym (opisanym w pkt 3) przeprowadzonym na podatnych odmianach ziemniaka nie stwierdzono żadnych oznak zakażenia określonym agrofagiem ani nie znaleziono żywych zarodników przetrwalnikowych podczas bezpośredniego badania gleby ze strefy porażenia pod mikroskopem po ekstrakcji zarodników jedną z metod przewidzianych w załączniku I pkt 2.

Schemat pobierania gleby do testów obejmuje wszystkie poniższe etapy:

- strefę porażenia dzieli się na jednostki o powierzchni 0,33 ha każda;
- z każdej jednostki pobiera się 60 podpróbek do głębokości 20 cm, z miejsc równomiernie rozmieszczonych na całym obszarze lub zgrupowanych w znanych miejscach występowania ognisk choroby;
- próbki miesza się dokładnie, tak aby otrzymać 3 próbki na ha.

2. Częściowe cofnięcie środków

Po upływie co najmniej 10 lat od ostatniego wykrycia określonego agrofaga na obszarach strefy porażenia można rozważyć częściowe cofnięcie środków przewidzianych w art. 6 w odniesieniu do tych obszarów, jeżeli istnieje pozbawiony luk rejestr upraw, z którego wynika, że przez cały czas przestrzegano przepisów art. 6 ust. 2 i 3, a strefa porażenia nie była wykorzystywana jako trwałe użytki zielone, oraz:

- a) w dwóch testach biologicznych, opisanych w pkt 3, przeprowadzonych na podatnych odmianach ziemniaka nie stwierdzono żadnych oznak zakażenia określonym agrofagiem lub

▼ B

- b) w jednym teście biologicznym, opisanym w pkt 3, przeprowadzonym na podatnych odmianach ziemniaka nie stwierdzono żadnych oznak zakażenia określonym agrofagiem i stwierdzono mniej niż 5 żywych zarodników przetrwalnikowych na gram gleby podczas bezpośredniego badania gleby ze strefy porażenia pod mikroskopem po ekstrakcji zarodników jedną z metod przewidzianych w załączniku I pkt 2.

Schemat pobierania gleby do testów obejmuje wszystkie poniższe etapy:

- strefę porażenia dzieli się na jednostki o powierzchni 0,33 ha każda;
- z każdej jednostki pobiera się 60 podpróbek do głębokości 20 cm, z miejsc równomiernie rozmieszczonych na całym obszarze lub zgrupowanych w znanych miejscach występowania ognisk choroby;
- próbki miesza się dokładnie, tak aby otrzymać 3 próbki na ha.

W przypadku gdy warunki te nie są spełnione, częściowe cofnięcie środków można rozważyć ponownie po upływie co najmniej dwuletniego okresu karencji. Przy określaniu długości tego okresu karencji państwa członkowskie biorą pod uwagę poziom zakażenia lub liczbę wykrytych żywych zarodników.

3. Testy biologiczne do celów cofnięcia środków

Kilka bulw określonych roślin inkubuje się w donicach razem z co najmniej 5 l gleby w warunkach temperatury, wilgotności i oświetlenia, które sprzyjają wzrostowi ziemniaków. Należy zastosować odmianę, która jest wysoce podatna na wszystkie patotypy (np. Deodara, Evora, Morene, Tomensa, Maritiema, Arran Chief).

Rosnące rośliny ziemniaka przycina się, gdy osiągną wysokość około 60 cm. Po około 100 dniach nowo uformowane bulwy bada się pod kątem występowania narośli.

Do testu zawsze włącza się negatywne kontrole gleby wolnej od określonego agrofaga oraz pozytywne kontrole gleby porażonej. Test uznaje się za ważny, jeśli na bulwach kontroli dodatniej powstają narośle, a na bulwach kontroli ujemnej nie powstają narośle. Rejestruje się warunki temperatury i wilgotności w szklarni. Narośle powstałe w próbach testowych bada się pod mikroskopem pod kątem występowania zarodni letnich lub zarodników przetrwalnikowych.

Cały test przeprowadza się w warunkach uniemożliwiających dalsze rozprzestrzenianie się określonego agrofaga.