

REGULAMENTO DE EXECUÇÃO (UE) 2022/1195 DA COMISSÃO**de 11 de julho de 2022****que estabelece medidas destinadas a erradicar e prevenir a propagação de *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival**

A COMISSÃO EUROPEIA,

Tendo em conta o Tratado sobre o Funcionamento da União Europeia,

Tendo em conta o Regulamento (UE) 2016/2031 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 26 de outubro de 2016, relativo a medidas de proteção contra as pragas dos vegetais, e que altera os Regulamentos (UE) n.º 228/2013, (UE) n.º 652/2014 e (UE) n.º 1143/2014 do Parlamento Europeu e do Conselho e revoga as Diretivas 69/464/CEE, 74/647/CEE, 93/85/CEE, 98/57/CE, 2000/29/CE, 2006/91/CE e 2007/33/CE do Conselho ⁽¹⁾, nomeadamente o artigo 28.º, n.º 1, alíneas a) a h),

Considerando o seguinte:

- (1) O Regulamento (UE) 2016/2031 constitui a base da legislação da União relativa a medidas de proteção contra as pragas dos vegetais. Uma vez que estabelece um novo conjunto de regras, o referido regulamento revoga, com efeitos a partir de 1 de janeiro de 2022, vários atos que se baseavam nas regras anteriores do setor.
- (2) Um desses atos revogados é a Diretiva 69/464/CEE do Conselho ⁽²⁾, que estabelece medidas contra o *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival («praga especificada»), o agente patogénico da verruga negra da batateira.
- (3) Além disso, desde a adoção dessa diretiva, registaram-se novos progressos técnicos e científicos no que diz respeito à biologia e à distribuição da praga especificada, tendo sido desenvolvidos novos métodos de testagem para a detetar e identificar, e aprovados outros métodos para a erradicar e prevenir a sua propagação.
- (4) Por conseguinte, é adequado adotar novas medidas para os vegetais de *Solanum tuberosum* L., com exceção das sementes («vegetais especificados»), para erradicar a praga especificada nos sítios de produção infestados, caso se detete a sua presença no território da União, e para prevenir a sua propagação. No entanto, determinadas medidas estabelecidas na Diretiva 69/464/CEE, em especial as relativas à deteção e prevenção da propagação da praga especificada, continuam a ser adequadas e devem, por conseguinte, ser previstas.
- (5) As autoridades competentes devem realizar prospeções anuais baseadas no risco para detetar a presença da praga especificada, pelo menos através de inspeção visual dos tubérculos nos sítios de produção em que os vegetais especificados são cultivados ou armazenados, a fim de assegurar a identificação e a erradicação da praga especificada, caso se detete a sua presença.
- (6) É conveniente que as regras relativas às prospeções incluam disposições sobre a amostragem e a testagem para deteção da presença da praga especificada, realizadas em conformidade com os mais recentes progressos técnicos e científicos. As regras relativas às prospeções anuais devem ser adaptadas à utilização prevista dos vegetais especificados, a fim de assegurar que as inspeções visuais, a amostragem e os testes se realizam no momento mais apropriado e nas condições mais adequadas para cada vegetal e sua utilização.
- (7) Os sítios de produção que se revelem infestados pela praga especificada devem ser registados oficialmente e os vegetais infetados devem ser oficialmente declarados como infetados, a fim de assegurar a transparência do seu controlo e a aplicação das medidas adequadas para erradicar a praga especificada e evitar a sua propagação.
- (8) Por conseguinte, é adequado adotar medidas relativas aos sítios de produção infestados e aos vegetais infetados, de forma a garantir que a praga especificada é erradicada e não se propaga. Essas medidas devem incluir o estabelecimento de áreas demarcadas e a adoção de procedimentos adequados de amostragem, análise e inspeção.

⁽¹⁾ JO L 317 de 23.11.2016, p. 4.

⁽²⁾ Diretiva 69/464/CEE do Conselho, de 8 de dezembro de 1969, respeitante à luta contra a verruga negra da batateira (JO L 323 de 24.12.1969, p. 1).

- (9) As variedades de batata devem ser declaradas resistentes a um patótipo específico da praga especificada, sempre que estejam preenchidas determinadas condições. Os testes para determinar essa resistência devem ser realizados em conformidade com os protocolos técnicos mais atualizados. Essa declaração é necessária como uma das medidas tomadas para erradicar a praga especificada das áreas demarcadas.
- (10) As medidas tomadas para erradicar a praga especificada devem ser revogadas se as áreas demarcadas forem consideradas livres da praga especificada ou após um período de espera adequado durante o qual não tenham sido cultivados vegetais hospedeiros. Trata-se de uma abordagem proporcionada, dado o risco fitossanitário negligenciável no que diz respeito à presença da praga especificada nessas áreas.
- (11) Para que a Comissão possa assegurar uma panorâmica geral das medidas tomadas pelos Estados-Membros na União e para que os Estados-Membros adaptem as respetivas medidas conforme necessário, os Estados-Membros devem notificar à Comissão e aos demais Estados-Membros, até 31 de janeiro de cada ano, a lista de todas as novas variedades de batata que, segundo análises oficiais, tenham considerado resistentes às pragas especificadas durante o ano anterior.
- (12) O presente regulamento deve entrar em vigor no terceiro dia seguinte ao da sua publicação no *Jornal Oficial da União Europeia*, a fim de garantir a sua aplicação o mais rapidamente possível após a revogação da Diretiva 69/464/CEE.
- (13) As medidas previstas no presente regulamento estão em conformidade com o parecer do Comité Permanente dos Vegetais, Animais e Alimentos para Consumo Humano e Animal,

ADOTOU O PRESENTE REGULAMENTO:

Artigo 1.º

Objeto

O presente regulamento estabelece medidas destinadas a erradicar o *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival e a prevenir a sua propagação no território da União.

Artigo 2.º

Definições

Para efeitos do presente regulamento, entende-se por:

- 1) «praga especificada», o *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival;
- 2) «vegetais especificados», os vegetais de *Solanum tuberosum* L., com exceção das sementes.

Artigo 3.º

Prospeções e testes laboratoriais da praga especificada

1. As autoridades competentes devem realizar prospeções anuais baseadas no risco para detetar a presença da praga especificada, pelo menos através de inspeção visual dos tubérculos nos sítios de produção em que os vegetais especificados são cultivados ou armazenados.
2. Em caso de suspeita de infeção dos vegetais especificados pela praga especificada, devem ser colhidas e testadas amostras para deteção da presença da praga especificada, utilizando os métodos estabelecidos no anexo I.
3. Os Estados-Membros devem comunicar à Comissão e aos outros Estados-Membros, até 30 de abril de cada ano, os resultados das prospeções referidas no n.º 1 que tenham sido efetuadas no ano anterior. Devem comunicar esses resultados em conformidade com o modelo estabelecido no anexo II.

*Artigo 4.º***Declaração de sítios de produção infestados e de vegetais especificados infetados**

1. As autoridades competentes devem declarar um sítio de produção como infestado pela praga especificada se a presença da praga especificada nesse local tiver sido oficialmente confirmada pelos testes referidos no artigo 3.º, n.º 2.
2. Os vegetais especificados cultivados num sítio de produção declarado como infestado pela praga especificada ou que tenham estado em contacto com o solo em que a praga especificada foi detetada devem ser oficialmente declarados como infetados.

*Artigo 5.º***Estabelecimento de áreas demarcadas**

1. Se a presença da praga especificada for confirmada oficialmente, as autoridades competentes devem, sem demora, demarcar uma área em conformidade com o disposto no n.º 2. Devem determinar o patótipo utilizando os métodos estabelecidos no anexo I, ponto 5.
2. A área demarcada deve compreender:
 - a) uma zona infestada, incluindo, pelo menos, o sítio de produção declarado como infestado; e
 - b) uma zona-tampão em redor da zona infestada.

A delimitação da zona-tampão referida no primeiro parágrafo, alínea b), deve basear-se em princípios científicos sólidos, na biologia da praga especificada, no nível de infestação, na distribuição e frequência de cultivo dos vegetais especificados na área em causa, nas condições ambientais e geográficas, bem como no risco específico de propagação dos esporos de repouso.

3. As autoridades competentes devem proceder a investigações adequadas para identificar a origem da infeção. Devem localizar os vegetais especificados associados ao caso de infeção em causa, incluindo os que tenham circulado antes do estabelecimento da área demarcada.
4. Na área demarcada, as autoridades competentes devem sensibilizar os operadores profissionais para a ameaça da praga especificada e para as medidas adotadas para a erradicar e prevenir a sua propagação fora dessa área. Devem velar por que os operadores profissionais tenham conhecimento da delimitação da área demarcada, da zona infestada e da zona-tampão, bem como das disposições do presente regulamento.

*Artigo 6.º***Medidas de erradicação**

1. Os vegetais especificados originários de uma zona infestada devem ser destruídos ou transformados em condições de segurança para impedir uma maior propagação da praga especificada. Se já não for possível determinar o sítio de produção de onde provêm os vegetais especificados infetados, todo o lote em que os vegetais especificados infetados foram detetados deve ser destruído ou transformado em condições que impeçam uma maior propagação da praga especificada.
2. Numa zona infestada, são aplicáveis todas as seguintes medidas:
 - a) não podem ser plantados, cultivados ou armazenados vegetais especificados;
 - b) nenhum outro vegetal destinado a replantação fora da zona infestada pode ser cultivado ou armazenado, quer no solo, quer em qualquer outro local;
 - c) a terra deve ser removida dos vegetais que não os referidos nas alíneas a) e b), através de métodos adequados que garantam que não existe qualquer risco identificável de propagação da praga especificada, antes de esses vegetais serem transportados da zona infestada para a zona-tampão, ou para fora da área demarcada, ou imediatamente depois;

- d) as máquinas devem ser limpas de terra e de detritos vegetais, antes ou imediatamente após a saída da zona infestada e antes de entrarem em qualquer sítio de produção situado na zona-tampão ou fora da área demarcada;
 - e) a terra ou os detritos provenientes de uma zona infestada só podem ser transportados e utilizados ou depositados fora dessa zona em condições que garantam que não existe qualquer risco identificável de propagação da praga especificada.
3. Os vegetais, que não os referidos no n.º 2, alíneas a) e b), dos quais a terra não tenha sido removida só podem ser transportados para fora da área demarcada se estiverem preenchidas as duas condições seguintes:
- a) são transportados para efeitos de remoção da terra desses vegetais através de métodos adequados que garantam que não existe qualquer risco identificável de propagação da praga especificada;
 - b) o transporte e a remoção da terra são efetuados sob supervisão oficial e foram tomadas medidas adequadas para impedir eficazmente a propagação da praga especificada.
4. As autoridades competentes devem assegurar que:
- a) na zona-tampão, não são cultivados vegetais destinados a replantação fora da área demarcada;
 - b) na zona-tampão, apenas são cultivados vegetais especificados de uma variedade que seja resistente aos patótipos da praga especificada detetados na zona infestada ou a todos os patótipos cuja ocorrência seja conhecida no seu Estado-Membro, tal como previsto no artigo 7.º, e que não se destinem à produção de vegetais especificados para plantação; e
 - c) a terra ou os detritos provenientes da zona-tampão são transportados e utilizados ou depositados fora da área demarcada em condições que garantam que não existe qualquer risco identificável de propagação da praga especificada.
5. Os Estados-Membros devem notificar a Comissão e os demais Estados-Membros dessas medidas imediatamente após a sua adoção.

Artigo 7.º

Variedades de batata resistentes aos patótipos da praga especificada

1. Uma variedade de batata deve ser declarada resistente a um determinado patótipo da praga especificada, sempre que reaja a uma contaminação pelo agente patogénico desse patótipo de modo a que não se produzam esporos de repouso.
2. Os testes de resistência devem ser realizados em conformidade com o protocolo estabelecido no anexo III. O grau de resistência das variedades de batata deve ser quantificado de acordo com a pontuação padrão que figura no quadro do anexo III.
3. Os Estados-Membros devem notificar à Comissão e aos demais Estados-Membros, até 31 de janeiro de cada ano, a lista de todas as novas variedades de batata que tenham autorizado para comercialização no ano anterior e que, mediante a realização dos testes referidos no n.º 2, tenham considerado resistentes à praga especificada. Devem indicar as variedades e os patótipos a que são resistentes, bem como o método utilizado para determinar essa resistência.

Artigo 8.º

Notificação da presença confirmada da praga especificada numa variedade de batata resistente

1. Os operadores profissionais e qualquer outra pessoa que tome conhecimento de quaisquer sintomas da praga especificada, resultantes de uma diminuição ou alteração da eficácia de uma variedade de batata resistente, relacionada com uma suspeita de alteração do patótipo da praga especificada ou de um novo patótipo, devem notificar desse facto as autoridades competentes.
2. Em todos os casos comunicados nos termos do n.º 1, as autoridades competentes devem investigar o patótipo envolvido e confirmar, utilizando os métodos estabelecidos nos anexos I e III, se a presença se deve a uma alteração do patótipo da praga especificada ou a um novo patótipo.

3. As autoridades competentes devem registar imediatamente as informações obtidas nos termos dos n.ºs 1 e 2.

Os Estados-Membros devem notificar à Comissão e aos demais Estados-Membros, até 31 de janeiro de cada ano, os pormenores das confirmações efetuadas nos termos do n.º 2 relativamente ao ano anterior.

Artigo 9.º

Revogação das medidas

1. As autoridades competentes podem revogar as medidas adotadas nos termos do artigo 6.º relativas a uma área demarcada se essa área ficar livre da praga especificada em conformidade com as condições estabelecidas no anexo IV.

2. Após a revogação das medidas nos termos do n.º 1, as autoridades competentes devem inspecionar, aquando da colheita, a primeira cultura de vegetais especificados que sejam suscetíveis ao patótipo relevante da praga especificada. Essa primeira cultura não pode ser deslocada para fora da área demarcada até que a inspeção seja realizada, a menos que a circulação seja efetuada sob o controlo da autoridade competente.

3. Em derrogação do n.º 1, e após um período mínimo de 10 anos desde a última deteção da praga especificada em partes específicas da zona infestada, as autoridades competentes podem revogar parcialmente as medidas aplicáveis nas respetivas partes das áreas demarcadas em causa, em conformidade com o disposto no anexo IV, ponto 2.

4. Em derrogação do artigo 6.º, n.º 2, alínea a), se estiverem preenchidas as condições para a revogação parcial das medidas previstas no artigo 6.º, podem ser cultivados vegetais especificados não destinados a plantação, desde que pertençam a uma variedade resistente aos patótipos da praga especificada detetados no sítio de produção infestado ou a todos os patótipos cuja ocorrência seja conhecida no Estado-Membro em causa.

Artigo 10.º

Entrada em vigor

O presente regulamento entra em vigor no terceiro dia seguinte ao da sua publicação no *Jornal Oficial da União Europeia*.

O presente regulamento é obrigatório em todos os seus elementos e diretamente aplicável em todos os Estados-Membros.

Feito em Bruxelas, em 11 de julho de 2022.

Pela Comissão
A Presidente
Ursula VON DER LEYEN

ANEXO I

Métodos de testagem para deteção e identificação da praga especificada referidos no artigo 3.º, n.º 2**1. Testagem por meio de esporos**

Para deteção e identificação, utilizam-se os esporângios de verão e os esporos de repouso obtidos do solo após peneiração ou diretamente a partir do material vegetal.

2. Métodos de deteção

Para a extração de esporos da praga especificada do solo, deve ser utilizado um dos seguintes métodos:

- a) método de peneiração do solo, tal como descrito por Pratt (1976) ⁽¹⁾;
- b) método de peneiração do solo, tal como descrito por van Leeuwen *et al.* (2005) ⁽²⁾;
- c) técnica de centrifugação zonal para o processamento de amostras de alto rendimento, tal como descrito por Wander *et al.* (2007) ⁽³⁾.

3. Métodos de identificação

Após a extração, os esporos da praga especificada devem ser identificados através de um dos seguintes métodos:

- a) identificação morfológica em microscópio ótico com ampliação de 100x-400x;
- b) PCR convencional com iniciadores baseados em Lévesque *et al.* (2001) ⁽⁴⁾ e van den Boogert *et al.* (2005) ⁽⁵⁾;
- c) PCR em tempo real utilizando iniciadores e sondas segundo van Gent-Pelzer *et al.* (2010) ⁽⁶⁾;
- d) PCR em tempo real utilizando iniciadores e sondas segundo Smith *et al.* (2014) ⁽⁷⁾.

4. Viabilidade dos esporos de repouso

A determinação da viabilidade dos esporos de repouso pode ser obtida por exame microscópico ou bioensaio. A viabilidade dos esporângios pode ser determinada por exame microscópico dos esporângios montados em lactofenol ou em água (Przetakiewicz 2015) ⁽⁸⁾. Os esporângios com conteúdo granular ou com um protoplasma ligeiramente arredondado podem ser considerados viáveis. Os esporângios permanentemente plasmolizados ou sem conteúdo aparente devem ser considerados mortos.

Em alternativa, ou em caso de dúvida, pode ser efetuado um bioensaio, tal como descrito no anexo IV, ponto 3.

5. Determinação dos patótipos

A determinação dos patótipos exige a presença de verrugas frescas.

⁽¹⁾ Pratt MA. 1976. «A wet-sieving and flotation technique for the detection of resting sporangia of *Synchytrium endobioticum* in soil» (não traduzido para português). *Annals of Applied Biology*, n.º 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» (não traduzido para português). *EPPPO Bulletin*, n.º 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» (não traduzido para português). *European Journal of Plant Pathology*, n.º 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» (não traduzido para português). *Canadian Journal of Plant Pathology*, n.º 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» (não traduzido para português). *European Journal of Plant Pathology*, n.º 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» (não traduzido para português). *European Journal of Plant Pathology*, n.º 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» (não traduzido para português). *Phytopathology*, n.º 104: p. 422-432.

⁽⁸⁾ Przetakiewicz, J. 2015. «The Viability of Winter Sporangia of *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. from Poland» (não traduzido para português). *American Journal of Potato Research*, n.º 92, p. 704-708.

O inóculo para o teste deve ser produzido por um dos seguintes métodos:

a) método SASA (*Science and Advice for Scottish Agriculture*), que consiste nas duas etapas seguintes:

i) produção de inóculo

O tecido da verruga velha (de cor castanha) é fragmentado em pedaços mais pequenos e secado ao ar à temperatura ambiente até endurecer. O tecido endurecido é triturado, manual ou mecanicamente.

O material triturado é peneirado a seco, recolhendo a fração de 25 a 75 µm e, em seguida, extraído pelo método do clorofórmio de Pratt (1976)¹;

ii) produção de verrugas frescas

Cerca de 10 mg de esporos de repouso extraídos são aspergidos sobre a superfície de 10 ml de água destilada estéril numa pequena placa de Petri de plástico e incubados na obscuridade, a 20 °C, até à germinação.

Os tubérculos de batata com rebentos pequenos com cerca de 1 a 2 mm de comprimento são colocados em caixas de plástico transparentes, revestidas de papel absorvente humedecido com os rebentos marcados virados para cima. Os rebentos são rodeados por um anel de vaselina fundida com a ajuda de uma seringa. O anel deve ser ininterrupto e suficientemente elevado para manter a suspensão dos esporos sem que ocorram fugas.

Os 10 ml de esporos de repouso em germinação são diluídos até 20 ml com água estéril e colocados no interior dos anéis por meio de uma pipeta ou de um frasco de compressão até que o rebento esteja completamente submerso na suspensão de esporos. As caixas de plástico são cobertas com tampas e incubadas durante quatro dias a 10 °C, após o que as caixas são abertas, o inóculo e os anéis de vaselina são retirados e as caixas são transferidas para uma estufa nebulizada a 15-18 °C (16 horas de luz);

b) método de Spiekermann & Kotthoff (1924) ⁽⁹⁾;

c) método de Potoček *et al.* (1991) ⁽¹⁰⁾;

d) método de Glynne-Lemmerzahn (Glynne 1925 ⁽¹¹⁾; Lemmerzahn 1930 ⁽¹²⁾; Noble e Glynne 1970 ⁽¹³⁾).

Para a determinação de todos os patótipos reconhecidos como relevantes para a União [1(D1), 2(G1), 6(O1), 18(T1) e 38(Nevşehir)], deve ser utilizado um teste diferencial de infeção com diversas variedades do vegetal especificado, tal como indicado no quadro. O teste de infeção deve ser realizado de acordo com o protocolo mencionado na alínea d) (método Glynne-Lemmerzahn).

Sensibilidade seletiva dos cultivares de batata para a determinação dos patótipos de *S. endobioticum*

Cultivar	Patótipos de <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»: suscetível

«R»: resistente

*: indica uma fraca suscetibilidade da variedade à *S. endobioticum* («presença de áreas de soros não necróticas sem a formação de verrugas»).

⁽⁹⁾ Spiekermann A, Kotthoff P. 1924. «Testing potatoes for wart resistance» (não traduzido para português). *Deutsche Landwirtschaftliche Presse*, n.º 51: p. 114-115.

⁽¹⁰⁾ Potoček J, Krajičková K, Klabzubová S, Krejcar Z, Hnízdil M, Novák F, Perlová V. 1991. «Identification of new *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. pathotypes in Czech Republic» (não traduzido para português). *Ochrana Rostlin*, n.º 27: p. 191-205.

⁽¹¹⁾ Glynne MD. 1925. «Infection experiments with wart disease of potatoes. *Synchytrium endobioticum*» (não traduzido para português). *Annals of Applied Biology*, n.º 12: p. 34-60.

⁽¹²⁾ Lemmerzahn J. 1930. «A new simplified method for inoculation of potato cultivars to test for wart resistance» (não traduzido para português). *Züchter*, n.º 2: p. 288-297.

⁽¹³⁾ Noble M, Glynne MD. 1970. «Wart disease of potatoes» (não traduzido para português). *FAO Plant Protection Bulletin*, n.º 18: p. 125-135.

Modelo de prospeção referido no artigo 3.º

Modelo para a apresentação dos resultados da prospeção da **verruca negra da batateira** na colheita de batata do ano anterior ao da comunicação.

Utilize este quadro apenas para os resultados das prospeções referentes às batatas colhidas no seu país.

Estado-Membro ou área	Categoria de batatas	Área total de cultivo (ha)	Inspeção visual de tubérculos						Testes laboratoriais					Outras informações
			Número de amostras	Número de lotes	Dimensão da amostra	Período de amostragem	N.º de casos suspeitos		Número de amostras	Dimensão das amostras	Tipo de teste	N.º de positivos		
							Amostras	Lotes				Amostras	Lotes	
	Batatas para produção de tubérculos para plantação													
	Para consumo e transformação													
	Outros ⁽¹⁾ (especificar)													

⁽¹⁾ No caso dos países com surtos, pode ser pertinente, por exemplo, indicar separadamente das prospeções gerais a quantidade de amostras utilizada para investigar os surtos ou fazer o seu seguimento.

ANEXO III

Protocolo para a avaliação da resistência de uma variedade a que se refere o artigo 7.º, n.º 2

O protocolo para a avaliação da resistência de uma variedade deve incluir as seguintes etapas:

- 1) Devem ser testados, no mínimo, 40 tubérculos ou fragmentos de batata com um olho por variedade do vegetal especificado. Estes devem ser divididos em dois grupos (réplicas).
- 2) O teste deve, em geral, ter uma duração de dois anos. Apenas no caso de uma variedade se revelar extremamente suscetível a um patótipo da praga especificada, a duração do teste poderá ser reduzida para um ano.
- 3) Antes do início de uma temporada de testes, deve ser verificada a pureza do inóculo utilizando os métodos descritos no anexo I.
- 4) Deve ser sempre incluído no teste um controlo positivo, sob a forma de uma variedade do vegetal especificado, que seja extremamente suscetível ao patótipo da praga especificada a testar.
- 5) Deve ser utilizado um dos seguintes métodos de testagem:
 - i) o método Glynne-Lemmerzahl (Glynne 1925, Lemmerzahl 1930, Noble & Glynne 1970),
 - ii) o método Spieckermann (Spieckermann & Kotthoff 1924), ou
 - iii) o método SASA (*Science and Advice for Scottish Agriculture*), que consiste em todas as etapas seguintes:

— preparação dos tubérculos:

Os tubérculos são retirados do armazém frigorífico cerca de 10 dias antes da inoculação prevista, lavados com suavidade, secos e armazenados em local escuro, à temperatura ambiente, para induzir a germinação.

Em cada inoculação é incluída uma variedade muito suscetível («Morene» ou uma variedade com suscetibilidade comparável) para servir de controlo positivo;

— germinação dos esporos de repouso:

As condições para induzir a germinação dos esporos de repouso são estabelecidas 21 dias antes da inoculação.

Cerca de 10 mg de esporos extraídos são aspergidos sobre a superfície de 10 ml de água destilada estéril em pequenas placas de Petri de plástico e incubados na obscuridade, a 20 °C, até à germinação.

O conteúdo de cada placa de Petri é diluído com mais 10 ml de água destilada estéril para a inoculação;

— inoculação e incubação de rebentos:

Quando atingirem 1 mm de comprimento, os rebentos são rodeados por um anel de vaselina fundida. O anel de vaselina deve ser ininterrupto para manter a suspensão de esporos sem que ocorram fugas e suficientemente elevado para que a suspensão cubra o rebento.

Cada tubérculo terá um único anel com um rebento ou um grupo de rebentos.

Os tubérculos são colocados em caixas de plástico, revestidas de papel absorvente humedecido com os rebentos anelados virados para cima.

Os anéis de vaselina são preenchidos com a suspensão de esporos por meio de uma pipeta ou de um frasco de compressão até que o rebento esteja completamente submerso.

As caixas de plástico são cobertas com tampas e incubadas durante quatro dias a 10 °C na obscuridade, após o que os anéis de vaselina são retirados e as caixas são colocadas abertas numa estufa a 15-18 °C em condições de nebulização periódica (três vezes por dia durante 30 minutos).

Nos casos em que a infeção tenha fracassado, por exemplo porque o rebento apodreceu ou não se desenvolveu, o tubérculo pode ser submetido a novo teste utilizando outro rebento;

— avaliação:

Os rebentos são examinados para deteção da infeção 28 dias após a inoculação, utilizando um microscópio estereoscópico com ampliação de 10-15× e um microscópio ótico.

Devem observar-se reações de pontuação 4 ou 5, conforme indicado no quadro, no controlo positivo em, pelo menos, 80% dos tubérculos. Pelo menos um tubérculo deve apresentar uma pontuação de 5.

- 6) Todos os tubérculos devem ser avaliados e ser-lhes-á atribuída uma pontuação de classificação da resistência de 1 a 5, tal como estabelecido no quadro.
- 7) Cada variedade analisada deve ser colocada num grupo de resistência («muito resistente», «resistente», «ligeiramente suscetível» ou «extremamente suscetível»), de acordo com a gama de pontuações observadas na respetiva população de tubérculos ou olhos individuais analisados:
- i) uma variedade é considerada «muito resistente» se todos os tubérculos de todas as réplicas tiverem uma pontuação de 1;
 - ii) uma variedade é considerada «resistente» se todos os tubérculos de todas as réplicas tiverem uma pontuação compreendida entre 1 e 3;
 - iii) uma variedade é considerada «ligeiramente suscetível» se um ou mais tubérculos tiverem uma pontuação de 4 (se apenas um tubérculo tiver uma pontuação de 4, o teste pode ser repetido, a fim de excluir a impureza no lote da variedade);
 - iv) uma variedade é considerada «extremamente suscetível» se, pelo menos, um tubérculo de uma réplica tiver uma pontuação 5.

Pontuações padrão para as populações de batata submetidas a testes

Pontuação padrão	Grupo de resistência	Descrição de resistência	Descrição
1	R1	Extremamente resistente	Necrose de defesa precoce; ausência de formação de soros visíveis.
2	R1	Resistente	Necrose de defesa tardia; formação de soros parcialmente visíveis, soros imaturos ou necróticos antes da maturidade.
3	R2	Pouco resistente	Necrose de defesa muito tardia; desenvolvimento de soros individuais maduros ou áreas de soros maduros, mas completamente rodeados de necrose; até um máximo de cinco soros não necróticos de verão permitidos, necrose clara noutras zonas do mesmo tubérculo. Ausência de formação de verrugas ou esporos de repouso. Para decidir entre os grupos 3 e 4, pode ser necessário preparar lâminas finas de tecido infetado: se não houver esporos de repouso, a pontuação deve ser de 3.
4	S1	Ligeiramente suscetível	Infeções dispersas; soros ou áreas de soros não necróticos, em pequeno número; pode existir necrose tardia noutros focos de infeção no rebento; o rebento pode ser ligeiramente malformado (espessado). Há esporângios de repouso (inverno). Para decidir entre os grupos 3 e 4, pode ser necessário preparar lâminas finas de tecido infetado: se houver esporos de repouso, a pontuação deve ser de 4.
5	S2	Extremamente suscetível	Áreas de infeção densas, numerosos soros e áreas de soros maduros não necróticos, áreas com densos focos de infeção não necróticos, formação de verrugas predominante.

ANEXO IV

Condições de revogação das medidas referidas no artigo 9.º**1. Condições de revogação das medidas**

1.1. Após um período mínimo de 50 anos desde a última deteção da praga especificada, se existir um registo ininterrupto de culturas na zona infestada que demonstre que as disposições do artigo 6.º, n.ºs 2 e 3, foram cumpridas durante todo esse período e que a zona infestada não foi utilizada como prado permanente.

1.2. Após um período mínimo de 20 anos desde a última deteção da praga especificada, se existir um registo ininterrupto de culturas que demonstre que as disposições do artigo 6.º, n.ºs 2 e 3, foram cumpridas durante todo esse período e que a zona infestada não foi utilizada como prado permanente; e

— não foram detetados sinais de infeção pela praga especificada em dois bioensaios (tal como descritos no ponto 3) com cultivares de batata suscetíveis; ou

— não foram detetados sinais de infeção pela praga especificada num bioensaio (tal como descrito no ponto 3) com cultivares de batata suscetíveis e não foram detetados esporos de repouso viáveis durante um exame microscópico direto do solo da zona infestada após uma extração de esporos com um dos métodos previstos no anexo I, ponto 2.

O regime a utilizar para obter o solo para os testes deve incluir todas as seguintes etapas:

— a zona infestada é dividida em unidades de 0,33 ha cada;

— devem ser colhidas 60 subamostras de cada unidade até uma profundidade de 20 cm e distribuídas uniformemente por toda a zona ou agrupadas de acordo com os focos de infeção conhecidos;

— as subamostras devem ser cuidadosamente misturadas, de modo a obter três amostras por hectare.

2. Revogação parcial das medidas

Após um período mínimo de 10 anos desde a última deteção da praga especificada em áreas da zona infestada, poder-se-á considerar a revogação parcial das medidas previstas no artigo 6.º para essas áreas se existir um registo ininterrupto de culturas que demonstre que as disposições do artigo 6.º, n.ºs 2 e 3, foram cumpridas durante todo esse período e que a zona infestada não foi utilizada como prado permanente, e se:

a) não forem detetados sinais de infeção pela praga especificada em dois bioensaios, tal como descritos no ponto 3, com cultivares de batata suscetíveis; ou

b) não forem detetados sinais de infeção pela praga especificada num bioensaio, tal como descrito no ponto 3, com cultivares de batata suscetíveis e forem detetados menos de cinco esporos de repouso viáveis por grama de solo durante um exame microscópico direto do solo da zona infestada após uma extração de esporos com um dos métodos previstos no anexo I, ponto 2.

O regime a utilizar para obter o solo para os testes deve incluir todas as seguintes etapas:

— a zona infestada é dividida em unidades de 0,33 ha cada;

— devem ser colhidas 60 subamostras de cada unidade até uma profundidade de 20 cm e distribuídas uniformemente por toda a zona ou agrupadas de acordo com os focos de infeção conhecidos;

— as subamostras devem ser cuidadosamente misturadas, de modo a obter três amostras por hectare.

Se estas condições não estiverem preenchidas, a revogação parcial das medidas pode ser novamente considerada após um período de espera mínimo de dois anos. Para determinar a duração desse período de espera, os Estados-Membros devem ter em conta o nível de infeção e/ou o número de esporos viáveis detetados.

3. **Bioensaios para efeitos de revogação das medidas**

Vários tubérculos dos vegetais especificados devem ser incubados em vasos juntamente com, pelo menos, 5 l de solo em condições de temperatura, humidade e luz favoráveis ao crescimento da batata. Deve ser utilizado um cultivar que seja muito suscetível a todos os patótipos (como Deodara, Evora, Morene, Tomensa, Maritiema, Arran Chief).

As plantas de batata em crescimento devem ser objeto de um corte redutivo quando atingirem uma altura de cerca de 60 cm. Após cerca de 100 dias, os tubérculos recém-formados devem ser examinados para deteção de verrugas.

No teste devem ser sempre incluídos controlos negativos de solo isento da praga especificada e controlos positivos do solo infestado. O teste é considerado válido se se formarem verrugas nos tubérculos do controlo positivo e não se formarem verrugas nos tubérculos do controlo negativo. As condições de temperatura e humidade na estufa devem ser registadas. As verrugas formadas nas amostras de ensaio devem ser submetidas a um exame microscópico para detetar a presença de esporângios de verão e/ou esporos de repouso.

Todo o teste deve ser realizado em condições que impeçam a propagação da praga especificada.
