

PRIEDAS

1. Nurodytųjų sėklų, išskyrus tų veislių, kurios, kaip žinoma, yra atsparios nurodytajam kenkėjui, augalų sėklas, mėginių ėmimo schemas

Sėklų mėginiai tyrimams atlikti imami pagal šias mėginių ėmimo schemas, atsižvelgiant į sėklų siuntas, kurios nurodytos atitinkamose Tarptautinio fitosanitarinės priemonių standarto Nr. 31 „Siuntų mėginių ėmimo metodikos“ (ISPM31) lentelėse:

- a) jei sėklų siuntą sudaro sėklos, gautos iš ne daugiau kaip 30 motininių augalų:
 - taikoma hipergeometrinė mėginių ėmimo schema, pagal kurią 95 % patikimumu galima nustatyti, kad užkrėstų augalų yra ne mažiau nei 10 %, arba
 - tiriamas kiekvienas sėklų siuntos motininis augalas;
- b) jei sėklų siuntą sudaro ne daugiau kaip 3 000 sėklų, taikoma hipergeometrinė mėginių ėmimo schema, pagal kurią 95 % patikimumu galima nustatyti, kad užkrėstų augalų yra ne mažiau nei 10 %;
- c) jei sėklų siuntą sudaro daugiau kaip 3 000, bet ne daugiau kaip 30 000 sėklų, taikoma mėginių ėmimo schema, pagal kurią 95 % patikimumu galima nustatyti, kad užkrėstų augalų yra ne mažiau nei 1 %;
- d) jei sėklų siuntą sudaro daugiau kaip 30 000 sėklų, taikoma mėginių ėmimo schema, pagal kurią 95 % patikimumu galima nustatyti, kad užkrėstų augalų yra ne mažiau nei 0,1 %.

Taikant polimerazės grandininės reakcijos (PGR) metodus, mėginių dalis sudaro ne daugiau kaip 1 000 sėklų.

2. Nurodytųjų augalų, išskyrus tų veislių, kurios, kaip žinoma, yra atsparios nurodytajam kenkėjui, augalus, mėginių ėmimo schemas

- a) Tų nurodytųjų augalų atveju, kai taikytina, iš kiekvienos gamybos vietos dalies ir kiekvienos veislės paimamas bent vienas mėginys, kurį sudaro ne daugiau kaip 200 jaunų augalų lapų nuo augalų viršaus arba vaisių taurėlapių.
- b) Užkrėtimo požymių turinčių augalų atveju mėginiai tyrimams atlikti imami ne mažiau kaip iš 3 užkrėtimo požymių turinčių lapų.
- c) Motininių augalų tyrimams atlikti atitinkamai imami jauni lapai nuo augalų viršaus arba vaisių taurėlapiai.

3. Tyrimų metodai, taikomi siekiant aptikti nurodytąjį kenkėją ant sėklų, išskyrus tų veislių, kurios, kaip žinoma, yra atsparios nurodytajam kenkėjui, augalų sėklas, ir jį identifikuoti

Nurodytasis kenkėjas ant nurodytųjų sėklų aptinkamas taikant vieną iš šių tyrimų metodų:

- tikrąja laiką AT-PGR naudojant Tarptautinės sėklų tyrimo asociacijos protokole (2020)¹ aprašytus pradmenis ir zondus;
- tikrąja laiką AT-PGR naudojant W. Menzel ir S. Winter (2021)² nurodytus pradmenis ir zondus;

¹ ISF (2020) *Detection of Infectious Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) in Tomato and Pepper Seed*. <https://worldseed.org/our-work/seed-health/ishi-methods/>, version1.5, upload 29/03/2023.

- tikrą laiką AT-PGR naudojant J. M. Bernabé-Orts *et al.* (2021)³ nurodytus pradmenis ir zondus.

Jeigu aptikimo tyrimo rezultatas teigiamas, kenkėjui identifikuoti, naudojant tą patį mėginį, bus atliktas antras tyrimas taikant vieną iš pirmiau išvardytų tikrą laiką AT-PGR metodų, kuris skiriasi nuo taikyto kenkėjui aptikti. Jeigu kenkėjo aptikimo ant apvilktų sėklų ir jo identifikavimo tyrimų rezultatai yra nenuoseklūs, sėklų apvalkalas, jei taikytina, pašalinamas ir sėklos iširiamos pakartotinai.

4. Tyrimų metodai, taikomi siekiant aptikti nurodytąjį kenkėją ant nurodytųjų augalų, išskyrus tų veislių, kurios, kaip žinoma, yra atsparios nurodytajam kenkėjui, augalus, ir ant nurodytųjų vaisių ir jų identifikuoti

Nurodytasis kenkėjas ant nurodytųjų augalų, išskyrus nurodytuosius tų veislių, kurios, kaip žinoma yra atsparios nurodytajam kenkėjui, augalus, ir ant nurodytųjų vaisių aptinkamas taikant vieną iš šių tyrimų metodų:

- IFA – tik tiriant užkrėtimo požymių turinčią medžiagą;
- įprastą AT-PGR naudojant R. Alkowni *et al.* (2019)⁴ nurodytus pradmenis;
- įprastą AT-PGR naudojant J. Rodriguez-Mendoza *et al.* (2019)⁵ nurodytus pradmenis;
- tikrą laiką AT-PGR naudojant Tarptautinės sėklų tyrimo asociacijos protokole (2020)¹ aprašytus pradmenis ir zondus;
- tikrą laiką AT-PGR naudojant W. Menzel ir S. Winter (2021)² nurodytus pradmenis ir zondus;
- tikrą laiką AT-PGR naudojant J. M. Bernabé-Orts *et al.* (2021)³ nurodytus pradmenis ir zondus.

Jeigu aptikimo tyrimo rezultatas teigiamas, kenkėjui identifikuoti, naudojant tą patį mėginį, bus atliktas antras tyrimas taikant vieną iš pirmiau išvardytų AT-PGR metodų, kuris skiriasi nuo taikyto kenkėjui aptikti.

² Menzel, W. & Winter, S. (2021). *Identification of novel and known tobamoviruses in tomato and other solanaceous crops using a new pair of generic primers and development of a specific RT- qPCR for ToBRFV*. *Acta Horticulturae* 1316, pp. 143–148.

³ Bernabé-Orts, J.M., Torre, C., Méndez-López, E., Hernando, Y., Aranda, M.A. (2021) *New Resources for the Specific and Sensitive Detection of the Emerging Tomato Brown Rugose Fruit Virus*. *Viruses* 13, 1680.

⁴ Alkowni, R., Alabdallah, O., Fadda, Z. (2019) *Molecular identification of tomato brown rugose fruit virus in tomato in Palestine*. *Journal of Plant Pathology* 101(3), 719–723.

⁵ Rodríguez-Mendoza, J., García-Avila, C.J., López-Buenfil, J.A., Araujo- Ruiz, K., Quezada, A., Cambrón-Crisantos, J.M., Ochoa-Martínez, D.L. (2019) *Identification of Tomato brown rugose fruit virus by RT-PCR from a coding region or replicase*. *Mexican Journal of Phytopathology* 37(2), 346–356.