

Stādīšanai paredzēto veselīgo augu ražošanas shēmas

PRET PATOĢĒNIEM PĀRBAUDĪTAIS ĶIRŠU STĀDU MATERIĀLS

Īpašais mērķis

Standartā norādītas prasības, kas piemērojamas saldajiem ķiršiem, skābajiem ķiršiem un to sakneņiem.

Pirmoreiz apstiprināts 1990.gada septembrī, kā daļa no EPPO standarta PM4/1.

Kā atsevišķs standarts apstiprināts 2000.gada septembrī.

Īpašā apstiprināšana un labojumi

Šī sertificēšanas shēma saldo ķiršu (*Prunus avium*), skābo ķiršu (*Prunus cerasus*) un to sakneņu (*P.avium*, *P.cerasus*, *Prunus mahaleb* un to starpsugu hibrīdu) pret patogēniem pārbaudītajam materiālam sniedz detalizētas vadlīnijas, attiecībā uz potēto augļu koku (pasugu) ražošanu, veģetatīvi pavairotiem sakneņiem un sēklstādiem. Shēma ir piemērota arī dekoratīvo ziedošo ķiršu koku sertificēšanai.

Augu materiālam, kas ražots saskaņā ar šo sertificēšanas shēmu, jābūt ņemtam no sākotnējā potcelma stādiem, kuri ir pārbaudīti un nesatur tabulā nr.1 minētos patogēnus, un ir izaudzēti apstākļos, kuros ir mazināta iespēja inficēties ar lielajiem attiecīgajai šķirnei raksturīgajiem patogēniem. Eksportam paredzētajiem sertificētajiem augļu koku materiāliem ir jāatbilst importētājvalstu fitosanitārajiem noteikumiem, jo īpaši attiecībā uz patogēniem, kas minēti šajā shēmā, kuri ir arī kaitēkļi, kas ierobežojami ar karantīnas noteikumiem. Shēma ir sagatavota saskaņā ar kārtību, ko ierosinājusi EPPO atbildīgā komisija par augļu stādu sertificēšanu un kuru apstiprinājusi EPPO Padome (OEPP/EPPO, 1992.)

Shēmas apraksts

Sertificētu ķiršu koku un sakneņu ražošanai ir jāveic šādi pasākumi:

- 1 Jānosaka pomoloģiskā kvalitāte: atlasiet atsevišķus katras sugas stādus, sakneņu veidus vai paveidus. (Šajā shēmā termini "paveids" un "sakneņi" ir izmantoti tradicionālajā augļu audzēšanas nozīmē: "paveids" ir atvases kultūraugs, bet "sakneņi" var būt kultūraugs vai suga). Pretējā gadījumā, no vīrusiem brīvs sākuma materiāls ir jāimportē no citām valstīm.
- 2 Sākotnējā potcelma ražošana: sākotnējā potcelma kandidātaugi tiek izaudzēti inokulējot vai potējot šo materiālu uz sākotnējā potcelma sakneņiem. Augi ir uzturami apstākļos, kuros tiem garantēta drošība no infekcijām. Kandidātaugu sākotnējais potcelms ir pārbaudāms, izmantojot shēmā norādītās precīzas procedūras. Pretējā gadījumā, no vīrusiem brīvie

augi (kandidātaugu sākotnējais potcelms) ir ražojams apstrādājot ar siltumu, kam seko atbilstoša pārbaude. Sākotnējā potcelma augu grupā iekļūst tikai tie kandidātaugu sākotnējo potcelmu stādi, kuri atbilst visām prasībām.

- 3 Sākotnējā potcelma saglabāšana: sākotnējā potcelma augi tiek turēti apstākļos, kuros tiem garantēta drošība no infekcijām, kas var rasties sakņu saskarsmes, putekšņu vai gaisā pārnēsāto slimību saskarsmes rezultātā, pēc vajadzības, veicot atkārtotu testēšanu.
- 4 Pavairošanas stādu krājumu ražošana: pavairošanas stādi ir izaudzējami no sākotnējā potcelma materiāla pēc iespējas mazāka skaita posmos, apstākļos, kuros tiem nodrošināta drošība no infekcijām, pēc vajadzības, veicot atkārtotu testēšanu.
- 5 Sertificēto augu ražošana: sertificētie augi tiek izaudzēti uzpotējot pavairošanas stādu materiālu uz sakneņiem, kas atbilst vismaz audzēšanas stādu standartam.

Visas procedūras garumā, nodrošiniet sākotnēji atlasīto augu pomoloģisko īpašību saglabāšanu. Veiciet regulāras pārbaudes, lai konstatētu iespējamās mutācijas, jo īpaši attiecībā uz paveidiem. Shēma uzskatāmi ir parādīta attēlos nr. 1 un 2.

Sertificēšanas shēmu īsteno oficiāla iestāde vai oficiāli reģistrēta, specializēta audzētava vai laboratorija, kas atbilst noteiktajiem kritērijiem (skatīt EPPO standartu PM4/7). Reģistrācijas prasības iestādēm, kuras veic tikai pēdējo ražošanas posmu (sertificēto augu ražošanu), ir mazāk stingras, nekā prasības, kas piemērojamas pirmo četru ražošanas posmu veicējiem.

Ir jāveic uzskaites par visām pārbaudēm un inspekcijām, kas notikušas ražošanas laikā. Gadījumā, ja atsevišķus sertificēšanas shēmas posmus veic reģistrēta audzētava, tad sertifikātu izsniedz oficiāla iestāde, pamatojot savu lēmumu ar pieejamajiem uzskaites materiāliem par pārbaudēm un inspekcijām, kas veiktas ražošanas laikā, un uz vizuālajām augu apskatēm, lai pārliecinātos par potcelmu veselības atbilstību.

1. Kandidātaugu atlase sākotnējam potcelmam

Paveidi

Shēmā iekļautais viens vai vairāki katra paveida augļu koki ar tipiskām agronomiskām īpašībām ir atlasāmi augļu dārzos un/vai no pomoloģiskajiem izmēģinājumu laukiem. Pretējā gadījumā, no vīrusiem brīvu sākuma materiālu var importēt no citām valstīm. Materiāli, kuri tiek ievesti no valstīm, kas nav EPPA dalībvalsts, ir jāpārbauda, izmantojot Starptautiskās Dārzkopības zinātnes biedrības (ISHS) ieteiktās metodes (skatīt Pielikumu II) pret visiem ķiršu (*Prenus*) ģintī izcelsmes reģionā dabiski sastopamajiem vīrusiem.

Veģetatīvi pavairotie sakneņi

Shēmā iekļautie veselīga izskata un spēcīgie atsevišķie stādi ar labām saknēm ar zināmām katra sakneņu veida agronomiskām īpašībām, ir atlasāmi no sakneņu dobēm un/vai pomoloģiskajiem izmēģinājumu laukiem. Pretējā gadījumā, no vīrusiem brīvu sākuma materiālu var importēt no citām valstīm. Materiāli, kuri tiek ievesti no valstīm, kas neietilpst EPPA teritorijā, ir pārbaudāmi līdzīgi kā paveidus (skatīt augstāk).

2. Sākotnējā potcelma ražošana

Paveidi

Vispārējā kārtība

Pomoloģiski izvēlēto koku pavairošanas materiālu apkopo un inokulē vai uzpotē uz sākotnējā potcelma sakneņiem. Šie augi (podos audzētie sākotnējā potcelma kandidātaugi) testu veikšanas laikā ir uzglabājami apstākļos, kurā tiem garantēta drošība no infekcijām, kas var rasties sakņu saskarsmes, putekšņu, gaisā vai augsnē pārnēsāto slimību saskarsmes rezultātā. Stādi audzējami sterilizētā augsnes substrātā, atdalītā, atbilstoši projektētā un no laputīm drošā telpā, pārbaudes laikā nošķirtībā no sākotnējā potcelma. Atsevišķie sākotnējā potcelma kandidātaugi ir jāpārbauda pret vīrusiem un vīrusa veida slimībām, kas norādīta tabulā nr. 1, izmantojot metodes, kas aprakstītas pielikumos I un II. Sākotnējā potcelma kandidātaugu var iekļaut sākotnējā potcelmā un pārvietot uz sākotnējo potcelmu krājumiem tikai tad, ja tas sniedz negatīvus testu rezultātus par visiem tabulā nr. 1 norādītajiem patogēniem.

Sanitārā procedūra

Attiecībā uz paveidiem, par kuriem neviens no atlasītajiem kokiem neuzrādīja negatīvu testu rezultātu, materiāls ir sagatavojams apstrādāšanai ar siltumu, inokulējot vai uzpotējot pavairošanas materiālu uz vairākiem podos iedēstītiem sakneņiem. Pēc tam, šie augi ir apstrādājami ar siltumu (pielikums III) un jaunie izaudzētie stādi (parasti, atvašu potzari) un pārbaudāmi pēc vienas augšanas sezonas, kas ir pietiekami ilgs laiks, lai ļautu iespējami klātesošajiem vīrusiem attīstīties. Sākotnējā potcelma kandidātaugu var iekļaut sākotnējā potcelmā un pārvietot uz sākotnējo potcelmu

krājumiem tikai tad, ja tas uzrāda negatīvus testu rezultātus. Gadījumā, ja noteiktā paveidā ir augsta ticamība, ka visi sākotnējā potcelma kandidātaugi ir inficēti ar vīrusiem, laiku iespējams ietaupīt, izlaižot pirmo pārbaudes reizi un pāriet uzreiz pie apstrādes ar siltumu.

Veģetatīvi pavairotie sakneņi

Vispārējā kārtība

Atlasītie atsevišķie augi un spraudņi (sākotnējā potcelma kandidātaugi) visā pārbaudes laikā ir uzglabājami apstākļos, kuros tiem garantēta drošība no infekcijām, kas var rasties sakņu saskarsmes, putekšņu, gaisā vai augsnē pārnēsāto slimību saskarsmes rezultātā. Stādi audzējami sterilizētā augsnes substrātā, atdalītā, atbilstoši projektētā un no laputīm drošā telpā, pārbaudes laikā nošķirtībā no sākotnējā potcelma. Atsevišķie sākotnējā potcelma kandidātaugi ir jāpārbauda pret vīrusiem un vīrusa veida slimībām, kas norādītas tabulā nr. 1, izmantojot metodes, kas aprakstītas pielikumos I un II. Sākotnējā potcelma kandidātaugu var iekļaut sākotnējā potcelmā un pārvietot uz sākotnējo potcelmu krājumiem tikai tad, ja tas sniedz negatīvus testu rezultātus.

Sanitārā procedūra

No tiem sakneņu veidiem, no kuriem neviens no atlasītajiem augiem nesniedz negatīvus testu rezultātus, zināms skaits augu (vai to atvašu) ir iedēstāmi podos, lai pēc noteikta laika tos apstrādātu ar siltumu. (pielikums III). Pēc tam, augi ir pārbaudāmi pēc vienas augšanas sezonas, kas ir pietiekami ilgs laiks, lai ļautu iespējami klātesošajiem vīrusiem attīstīties. Sākotnējā potcelma kandidātaugu var iekļaut sākotnējā potcelmā un pārvietot uz sākotnējo potcelmu krājumiem tikai tad, ja tas sniedz negatīvus testu rezultātus. Attiecībā uz tiem sakneņu veidiem, kas ir lietošanā jau ilgu laiku, ir ieteicams izlaist pirmo testēšanas reizi un pāriet pie apstrādes ar siltumu. Tieša augu testēšana pēc atlases kritērijiem var ietaupīt laiku tikai strādājot ar jaunas sugas sakneņu veidiem.

Citu kaitēkļu pārbaude

Visi sākotnējā potcelma kandidātaugi (paveidi un veģetatīvi pavairotie sakneņi), paralēli pārbaudēm pret slimībām un patogēniem, kas minēti tabulā nr.1, ir pārbaudāmi pret citu kaitēkļu klātbūtni, kuri var pāriet uz pavairošanas materiālu. Īpaši, šāda kārtība ir jāievēro attiecībā uz drošības nodrošināšanu pret *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*, *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, *Phytophthora* spp. un *Quadraspidiotus perniciosus*.

3. Sākotnējā potcelma uzglabāšana

Sākotnējā potcelma augi ir uzglabājami apstākļos, kuros tie atrodas drošība no (atkārtotas) inficēšanas. Gaisa infekcijas riska dēļ, augus ieteicams glabāt siltumnīcā, kas ir droša no laputīm un iedēstītiem

tvertnēs, kas pildītas ar sterilizētu augsnes substrātu, un atdalītas no augsnes. Sākotnējā potcelma augus var uzglabāt arī brīvā dabā, kur tie atrodas aptuveni 1 km attālumā no jebkāda veida kultivētiem vai savvaļas *Cerasus* apakšģints ķiršu kokiem, un ir aizsargājami no apputeksnēšanās. Papildus, ir jāveic augsnes pārbaudīšana un tai jābūt brīvai no vīrusus pārnēsājošajām *Longidorus* un *Xiphinema* ģints nematodēm (pielikums IV). Pārlicinieties par nematožu klāt neesamību augsnē ik pēc 5 gadiem.

Pārbaudiet katru augu attiecībā uz tā atbilstību tā šķirnei auga veģetatīvajā posmā. Tāpat, katru gadu pārbaudiet augus vizuāli un pārlicinieties vai nav redzamas iespējamo mutāciju pazīmes.

Kad augi ir uzpotēti uz jaunajiem sakneņiem, vienu reizi gadā ir jāveic katra auga atkārtotu pārbaudīšanu pret PNRSV, PDV un ApMV. Turklāt, visi augi ir atkārtoti pārbaudāmi pret visiem vīrusiem un vīrusu veida slimībām, atbilstoši katrai sugai (tabula nr.1). augi ir vizuāli jāapskata vairākas reizes gadā un jāpārbauda vai nav redzami vīrusu vai vīrusu veida slimību simptomi, kā arī pret citiem iepriekš minētiem kaitēkļiem. Ikviena augs, kurš sniedz pozitīvu testu rezultātu vai tam redzami vīrusu, vīrusu veida slimību vai citu iepriekš minēto kaitēkļu simptomi, ir nekavējoties jāizņem no sākotnējā potcelma krājumiem.

4. Pavairošanas stādu ražošana

Sākotnējais potcelms ir pavairojams pēc skaita pēc iespējams mazāk posmos, lai tādā veidā iegūtu vajadzīgo pavairošanas stādu skaitu. Sākotnējā potcelma materiāls ir inokulējams vai uzpotējams uz identiska sertifikācijas statusa sakneņiem vai sēklaudžiem. Pavairošanas stādi ir audzējami pārbaudītos laukos, kuri ir brīvi no vīrusus pārnēsājošām *Longidorus* un *Xiphinema* ģints nematodēm (pielikums IV) un nošķirtībā no tās pašas ģints materiāliem, kas nav sertificēti vai to sertifikācijas statuss ir zemāks. Attiecībā uz sakneņiem, var izmantot *in vitro* pavairošanu (vadlīnijas sniegta pielikumā V).

Sēklas, kas izaugušas uz sakneņu pavairošanas stādiem¹ atļauts ievākt; tās ir pārbaudāmas pret vīrusiem, kas pārvietojas ar sēklu starpniecību (pielikums I) un izdiedzējami, lai ražotu sēklaudžu sakneņus.

Šīs sēklas tiks izmantotas kā sakneņi sertificētiem kokiem dēstu audzēšanas stadijā. Sēklstādu sakneņus var izmantot arī kā pavairošanas stādu sakneņus, ar nosacījumu, ka augi un kuriem sēklas ir izaugušas, atrodas vismaz 300 metru attālumā no jebkuriem ķiršu kokiem un atrodas pavairošanas stādu apstākļos.

¹ Sēklas pavairošanas stādu vajadzībām, atļauts ievākt tikai no savvaļas *Prunus avium* kokiem, kas ir pārbaudīti pret vīrusiem, kas pārnēsājami ar sēklu starpniecību, un kuras paredzēts izmantot sertificētu augu sēklstādu sakneņu (nevis pavairošanas stādiem) ražošanai.

Pavairošanas stādu krājumus katru gadu nepieciešams vizuāli pārbaudīt vai nav redzami vīrusu simptomi un citi iepriekšminētie kaitēkļi. Īpaša uzmanība ir jāpievērš dabiskā ceļā pārnēsājamiem vīrusiem. Papildu drošības labad, pavairošanas stādu krājuma pirmās paaudzes augi katru gadu ir jāpārbauda "EISA" pret PNRSV un PDV.

Katrs inficētais augs ir iznīcināms. Ja novērojat infekcijas pazīmes, kas liecina, ka infekcija ir pārmantota no iepriekšējās paaudzes, tad ieteicams visus augus no attiecīgās dobes iznīcināt un veikt izcelsmes augu atkārtotu pārbaudi.

Augus nepieciešams vizuāli apskatīt vai nav novērojamas iespējamas mutācijas. Šī pārbaude ir pirmā iespēja pārbaudīt augļus, tomēr jāņem vērā, ka sakneņu veids var ietekmēt augļu īpašības.

5. Sertificēto augu un sēklu ražošana

Lai veiktu sertificētu augļu koku, atvases materiālu nepieciešams uzpotēt vai inokulējot tikai uz sakneņiem ar identisku vai augstāku sertifikācijas statusu. Šie augi ir audzējami laukos, kas ir nošķirti no potenciāliem infekciju avotiem. Lai augi būtu sertificēti, oficiālām iestādēm ir jāveic to pārbaude pret vīrusu, vīrusu veida slimību vai iepriekšminētu citu kaitēkļu simptomiem. Augi, kuriem konstatēti šādi simptomi ir iznīcināmi, bet pārējie var tikt sertificēti.

Lai ražotu sertificētas sēklas, sēklas no sakneņu pavairošanas krājumiem (skatīt augstāk) ir jānotīra, jāpārbauda pret vīrusiem, kurus pārnēsā sēklas (pielikums I) un jāiesaiņo noslēgtos maisos.

6. Sertificēšanas shēma administrēšana

Shēmas uzraudzība

Par shēmas administrēšanu un uzraudzību ir atbildīga kāda oficiāla iestāde. Ja dēstu audzēšanas dažādos posmos veic vairākas oficiāli reģistrētas audzētavas, tad šī oficiālā iestāde apstiprina, ka ražošanas laikā ir veikti visi nepieciešamie testi un pārbaudes, un apstiprina augus vispārējo veselības stāvokli, atbilstoši shēmai, veicot stādu vizuālu apskati. Pretējā gadījumā, augi netiks sertificēti un/vai attiecīgajiem augiem tiks liegta atļauja turpināt sertificēšanas shēmu.

Sertificējamā materiāla izmantošanas un statusa kontrole

Visā sertificēšanas shēmas laikā, ir jābūt skaidrai katra auga izcelsmei, lai konstatējot veselības problēmas, būtu iespējams izsekot to avotu, kā arī pārlicināties par auga atbilstību auga veidam.

Pavairošanas materiāla izmantošanas pārbaudi audzētavās sertificētu krājumu ražošanā, veic oficiāli pilnvarota organizācija, kur uzrauga šādu materiālu veselību, izcelsmi un daudzumu, veicot pārbaudes klātienē, kā arī pārbaudot audzētavu iesniegtos uzskaites žurnālus un dokumentus. Īstenojot audzētavu

augu aizsardzības programmu un veicot pārbaužu vizītes, ir jāņem vērā arī citi nozīmīgi kaitēkļi, kuri var ietekmēt krājumu kvalitāti, ar mērķi, lai augļu audzētājiem piegādātie sertificētie stādi būtu brīvi no šādiem kaitēkļiem. Sertificētam augļu koku materiālam, kas paredzēts eksportam, ir jāatbilst importētājvalstu fitosanitārajiem noteikumiem.

Tiem sertificētajiem stādiem vai sēklām, kas beidz sertifikācijas shēmu ir jābūt atzīmētiem ar oficiālu sertifikātu (tā var būt arī informatīva uzlīme), uz kuras norādīta sertifikāta izdevējiestāde, stāda ražotājs un stādu sertifikācijas statuss.

Pielikums I: Vadlīnijas par pārbaužu procedūrām

Koksnes indikatoraugu pārbaude (brīvā dabā un siltumnīcās)

Koksnes indikatoraugu izmantošana ir obligāts solis ikvienā sertificēšanas programmā. Šāda pārbaude nepieciešama, jo pastāv slimības, no kurām dažas ir ļoti būtiskas, kuras iespējams atklāt tikai uz koksnes augiem. Metode sastāv no potētiem indikatoraugiem ar potzaru no sākotnējā potcelma kandidātaugiem vai augiem, par kuriem ir aizdomas, ka tie ir inficēti, un indikatoraugu jauno atvašu un/vai augļu novērošanu vai tiem nav konstatējami attiecīgi simptomi. Šādi simptomi parasti ir specifiski un daudzu slimību gadījumā var liecināt par to esamību.

Jā pārbaude tiek veikta siltumnīcā, tai jābūt aprīkotai ar apkures un dzesēšanas iekārtu, lai nodrošinātu pareizu temperatūru, tādā veidā, atvieglojot simptomu pazīmju izpausmi (temperatūras intervāls no 18 - 25°C) (pielikums II). No siltumnīcās ir jāizmanto vismaz trīs katra indikatorauga stādi. Indikatoraugi, kas aug brīvā dabā (3 – 5 augi no katra) ir novērojami vismaz 2 gadus.

Zālveida stādu pārbaude (siltumnīcās)

Zālveida indikatoraugu izmantošana ļauj noteikt mehāniski pārnēsājamus vīrusus, tajā skaitā maznozīmīgos. Šī metode ir izmantojama, kā papildu paņēmieni, bet ne aizstājējs, citām diagnostikas procedūrām. Tā var būt noderīga, piemēram, sākotnējai bojāto stādu atlasīšanai vai pārbaudēm pēc nejaušības principa. Zālveida indikatoraugu pārbaude ir jāveic siltumnīcā, kas aprīkota ar apkures un dzesēšanas iekārtu (temperatūras intervāls no 18 - 25°C). Ir jāizmanto vismaz pieci katra indikatorauga stādi.

Pārbaude ar “ELISA” metodi

“ELISA” metode ļauj veikt lielapjoma pārbaudes attiecībā uz augļkoku vīrusiem, kuriem ir pieejami poliklonālie un/vai monoklonālie imūnie serumi. Tomēr, kā jebkurai antiķermeņa metodei, arī šai pastāv noteikti ierobežojumi, piemēram, zemas koncentrācijas vīrusi kokā, neregulāri izvietoti vai noteiktos gadalaikos neatklājami vīrusi.

PQR

Polimerāzes ķēdes reakciju (PQR) var izmantot, lai atklātu vīrusus vai vīrusa veida slimības. Seroloģiskos un molekulāros testus iespējams apvienot, šādā veidā, paaugstinot katras pašas metodes jūtīgumu, piemēram, apgrieztā transkriptāze – PQR (IC-RT-PQR)

Sēklu partiju pārbaude

Ir pieejamas dažādas paraugu ņemšanas un pārbaužu metodes. Tipiskā metode ir šāda; no sēklu partijas (kura sastāv no 50 kg sēklu) tiek ņemtas 200 sēkliņas,, kas tiek pārbaudītas ieliekot tās ūdenī un atstājot tajā vismaz uz vienu nakti. Pēc tam sēklas atveras un sēkliņu kodoli tiek izņemti. Izmantojot standarta “ELISA” metodi, tiek izņemtas sēkliņas un apvienotas grupās pa trim līdz piecām sēkliņām (ieskaitot sēkliņu apvalkus un embrijus). Ja kāds no “ELISA” testiem ir pozitīvs, visa sēklu partija nav derīga.

Pielikums II Vadlīnijas slimību atklāšanai

Slimību atklāšanas metodes ir norādītas tabulās nr. 2 un 3 attiecībā uz katru vīrusu vai slimību ar šādiem virsrakstiem:

- koksnes pārbaudes (brīvā dabā): pārbaudes uz koksnes indikatoraugiem brīvā dabā;
- koksnes pārbaudes (siltumnīcā): pārbaudes uz koksnes indikatoraugiem siltumnīcā;
- Zālveida indikatoraugu pārbaudes: siltumnīca veicamas pārbaudes uz zālveida indikatoraugiem;
- seroloģiskās vai molekulārās pārbaudes: izmantojot ELISA, RT-PQR, IC-RT-PQR metodes.

Attiecībā uz koksnes pārbaudēm, indikatoraugi ir norādīti sarakstā un aiz katra iekavās ir redzams skaitlis, kurš norāda atvašu skaitu, temperatūru izteiktu °C (pārbaudēm siltumnīcās), pārbaudes ilgumu, (d – dienas, n – nedēļas, g – gadi, a – augļu augšanas gadu skaits) un beigās – neliels simptomu apraksts. Vispārēji, koksnes indikatoraugu pārbaudīšana vienmēr ir nepieciešama, lai nodrošinātu sākotnējā potcelma drošību no vīrusiem., tāpēc koksnes indikatoraugu pārbaudes vienmēr tiek uzsvērtas. Zālveida indikatoraugu pārbaudes, seroloģiskās pārbaudes vai RT-PQR testi tiek pārsvarā izmantoti, lai ātri atsijātu kandidātmateriālu un taupīgi atsijātu inficētos stādus vai arī veicot pavairošanas stādu krājumu atkārtotu pārbaudi.

Informāciju par pārbaudēm, galvenokārt, iegūst no ISHS darba grupas par augļu koku vīrusiem publikācijām “Acta Horticulturae” pēc katras sanāksmes, kas notiek ik pēc trīs gadiem. (Anon, 1998.)

Lasītājiem ieteicams iepazīties ar jaunākajām ISHS rekomendācijām, kurās ir sniegtas arī galvenās norādes uz izmantojamajām metodēm, jo īpaši, uz PQR metodi, kurā mūsdienās notiek strauja tehnoloģiskā attīstība. ISHS rekomendācijas ietver arī viedokļus par šo metožu priekšrocībām un trūkumiem. EPPO Pret patogēniem pārbaudīto augļu stādu sertificēšanas

komisija, izskatot ISHS rekomendācijas, ir noteikusi tos koksnes indikatoraugus, kuru izmantošanu, balstoties uz komisijas pieredzi, tā īpaši iesaka kā efektīvu un vienkāršu izmantošanā. To lietošana neizslēdz pārējo ISHS minēto metožu lietošanas iespējamību vai lietošanas piemērotību individuālā kārtā attiecīgajos apstākļos.

Pielikums III Vadlīnijas par sanitārajām kārtībām

Siltumterapija ir plaši izmantota metode patogēnu novēršanai ķiršu paveidos un sakneņos. Pastāv pavisam neliela pieredze meristēma kultūras izmantošanā vai uzpotēšanā (skatīt EPPO standartu PM 4/30). Vēlāk ir jāseko apstrādātā materiāla veselības stāvokļa pārbaudei.

Siltumterapija

Augļu stādu siltumterapijai izmantojamo pieejamo metožu lielā skaita dēļ, atkarībā no apstrādājamā materiāla veida, metožu izvērsts apraksts šeit nav sniegts, tomēr to var iegūt šādās publikācijās: (Anon, 1970.; Nemeth, 1986. vai Fridlund, 1989.).

In vitro siltumterapija

Ķiršu paveidus, kuru siltumapstrādi veikt ir ļoti grūti, atļauts pakļaut ilgākai siltuma apstrādei ar vidēji augstu temperatūru (34-38°C) veģetatīvās pavairošanas kārtās.

Pielikums IV Vadlīnijas par nematožu analīzi

Augsnei, kurā paredzēts dēstīt sertificējamo materiālu, jābūt pārbaudītai un ņemtajiem paraugiem jābūt brīviem no nematožu slimību pārnēsātājiem, kas minēti tabulā nr.4. Augsnes paraugi ņemami dziļumā no 10 līdz 30 cm, izmantojot puscilindrisku urbi, kura diametrs ir vismaz 2,5 cm. Tādus ieskrūvējamus urbjus vai citus darba rīkus, kuru diametrs ir mazāks par iepriekš norādīto, izmantot nav atļauts, jo šādā veidā ņemot paraugus, iespējams bojāt nematodes. Ja iespējams, paraugu ņemšanu ieteicams ņemt laikā, kad augsne ir mitra, pretējā gadījumā, paraugi ir ņemami no dziļāka augšējās slāņa, aptuveni 30 līdz 60 cm dziļumā. Paraugi ir ņemami, sadalot lauku koordinātu režģī, un ņemot, piemēram, 20 paraugus laukos, kuru platība ir līdz 0,20 ha un 40 paraugus laukos, kuru platība ir robežās no 0,20 līdz 4 ha. Cits iespējamais paraugu ņemšanas vietu izvēles risinājums (kurš ir daudz intensīvāks, tomēr joprojām tiek izmantots vairākās valstīs) ir sadalīt lauku 0,2 ha lielās platībās un ņemt 60 paraugus katrā no šīm paraugu ņemšanas platībām. Papildu paraugus var paņemt lauka jebkurā malā, kas to ieskauj.

Nematožu izņemšana no augsnes ir veicama, izmantojot metodi, ko dēvē par Flega (Flegg, 1967.) metodi un kuras veikšanai vajadzīgs minimāls aprīkojums: rūpīgi un viscaur sajauciet paņemto augsnes materiālu ar ūdeni un sadaliet to divos apakšparaugos, katrs 200 ml apmērā. Atstājiet abus apakšparaugus mirkt ūdenī uz vismaz 1 stundu, pēc tam izmazgājiet augsni caur 4 mm sietu, salejot visu 10 litru spainī, kurš piepildīts līdz malām. Spaiņa saturu maisiet ar roku un ļaujiet augsnei nogulsnēties, pēc tam pagaidiet 25 sekundes un pēc tam ūdens virpusē esošo slāni izlejiet caur trīs sietiem, kuru poru platums ir 150-µm. pēc tam vēlreiz piepildiet spaini un atkārtoti veiciet maisīšanu un nosmelšanu (pēc tam, kad ir pagājušas 15 sekundes). Nogulsnes, kas sakrājušās uz sietiem nepieciešams izmazgāt un izliet caur neilona sieta, kura poru platums ir 110 µm. Novietojiet sietu uz stikla karafes, kurš piepildīts ar tādu ūdens daudzumu, lai nosēdumi uz sieta iegremdētos ūdenī, atstājiet to iemērktu ūdenī uz 24 stundām, pēc tam, caur karafes kakliņu izlejiet aptuveni 25 ml (tas iespējams, ja karafes kakliņš noslēdzas ar gumijas uznavu, kura aizdarīta ar skavu), lai veiktu apskati 25 reižu palielinājumā. Nematožu skaitīšanu veic 25 reižu lielā palielinājumā, tomēr to veidu var noteikt tikai pieredzējis taksonomists pie ievērojami lielāka palielinājuma. Nematodes iespējams tiešā veidā pārbaudīt uz vīrusu klātbūtni, izmantojot "sašķelšanas metodi", t.i. pāršķeļot nelielu skaitu nobriedušo nematožu (> 5 nematodes) fosfāta buferšķīdumā (pH 6,9) un izmantojot suspensiju, inokulējot *Chenopodium*

quinoa lapas. Netiešā metode, lai veiktu nemadotu pārbaudi pret vīrusu klātbūtni, ir podos, kas pildīti ar lauka augsni, kurā nematodes atrodas jau trīs nedēļas, izaudzēt inficētus *Petunia hybrida* stādus, un pēc tam pārbaudīt stādu saknes pret vīrusu klātbūtni, veicot indikatoraugu inokulāciju.

Pielikums V Vadlīnijas par *in vitro* pavairošanu

Ķiršu koku veģetatīvā pavairošana tiek praktizēta vairākās Eiropas laboratorijās, lai paaugstinātu un intensificētu stādāmā materiāla pavairošanu. Attiecībā uz ķiršu kokiem, *in vitro* pavairošanu var izmantot attiecībā uz lielāko daļu sakneņu, un pašlaik pieejamā pieredze ir pietiekama, lai šādu metodi varētu droši ieteikt. Kopumā, to veikt vieglāk ir izmantojot materiālu, kurš ir pavairots ar spraudņu palīdzību, bet vislietderīgāk to iespējams izmantot attiecībā uz materiālu, kuri ir grūti pavairot citādā veidā. Pašlaik, to var izmantot uz *P. avium*, *P. cerasus* un *P. mahaleb*. Liels skaits starpsugu hibrīdu (piem. Colt, Maxma 14) arī tiek pavairoti izmantojot *in vitro* metodi. Kopumā, *in vitro* pavairošana nesniedz konkrētas priekšrocības atvašu kultūraugiem, kuri netiks izaudzēti no savām saknēm.

In vitro risinājumu var izmantot arī, lai uzglabātu materiālu drošībā no jebkādiem infekcijas riskiem, veicot šādas darbības:

- regulāra, 3 nedēļas ilgstoša stādu kultivēšana. Eksplantācijai atļauts izmantot tikai žakli, savukārt, tūlznū veidošanās būtu jāierobežo, lai izvairītos no ģenētisku pārešanas monoklonālas variācijas rezultātā;
- uzglabāt pie temperatūras 4°C, gaismā vai tumsā vairākus mēnešus neveicot kultivēšanu;
- galotņu aizsargāšana no aukstuma (meristēmas un dažu lapu sēklotnes), izmantojot šķidrums N₂ pie temperatūras -176°C pēc aukstumapstrādes vai ieslēgšanas algināta lodītēs.

Jauns sakneņu materiāls, kurš pavairots *in vitro* veidā, ir audzējams tālāk, lai pārbaudītu tā pomoloģiskās un jaunības īpašības, pirms potēšanas. Visus tirdzniecībai paredzētos materiālus, kuri izturējuši *in vitro* pavairošanu, ieteicams marķēt ar attiecīgu norādi.

Publikācijas

Anon (1970) *La Théromothérapie des Espèces Ligneuses*. Station de cultures fruitières et maraichères, Gembloux (BE).

Anon (1998) International Working Group on fruit-tree viruses – ISHS. Detection of virus and virus-like diseases of fruit trees: laboratory assays, bioassays and indicators. *Acta Horticulturae* No. 472, 761-783.

Flegg JJM (1967) Extraction of *Xiphinema* and *Longidorus* spp. from soil by a modification of Cobb's decanting and sieving technique. *Annals of Applied Biology* 60, 429-437.

Fridlund P (1989) Thermotherapy. In: *Virus and Virus-like Diseases of Pome Fruits and Simulating Noninfectious Disorders* (Ed. Fridlund P), pp. 284-295. Cooperative Extension, Washington State University, Pullman (US).

Németh M (1986) *Virus, Mycoplasma and Rickettsia Diseases of Fruit Trees*, pp. 135-139. Martinus-Nijhoff, Dordrecht (NL).

Tabula nr. 1 EPPO teritorijā sastopamie ķiršu koku paveidu un sakneņu (*Prunus avium*, *P. cerasus*, *P. mahaleb* un starpsugu hibrīdi) vīrusi un citi patogēni, kurus saskaņā ar sertificēšanas shēmu, nepieciešams pārbaudīt

Vīruss	Saisinājums
<i>ābeļu hlorotiskā lapu plankumainība</i>	ACLSV
<i>ābeļu virālā mozaīka</i>	ApMV
<i>arabis mozaīka</i>	ArMV
<i>Petunia asteroid virālā mozaīka un Carnation Italian gredzenplankumainība, kas izraisa ķiršu koku kaitējošo rūsēšanu</i>	PAMV, CIRV
<i>Ķiršu zaļā gredzenplankumainība</i>	CGRMV
<i>Ķiršu virālā lapu ritināšanās</i>	CLRV
<i>Mazie ķiršu hlosterovīrusi 1 un 2</i>	LChV-1, LChV-2
<i>Ķiršu lapu virālā plankumainība</i>	ChMLV
<i>plūmju virālā pundurainība</i>	PDV
<i>plūmju nekrotiskā gredzenplankumainība</i>	PNRSV
<i>aveņu virālā gredzenplankumainība</i>	RpRSV
<i>zemeņu latentā gredzenplankumainība</i>	SLRSV
<i>tomātu virālā melnplankumainība</i>	TBRV
Vīrusu veida slimības	
Ķiršu nekrotiskā rūsveida plankumainība	
Rūsveida plankumainība (Eiropas)	

Tabula nr. 2 Ķiršu koku vīrusu atklāšanas metodes

ACLSV	
Koksnes pārbaudes (brīvā dabā)	GF305 sēklstāds (vai Elberta) (3/-/2y) (tumši zaļi iegrimuši raibumi uz lapām)
Koksnes pārbaudes (siltumnīcā)	GF305 sēklstāds (5/20/12w) (tumši zaļi iegrimuši raibumi uz lapām)
Zāļveida stādu pārbaudes	<i>Chenopodium quinoa</i> , <i>Chenopodium amaranticolor</i>
Seroloģiskās vai molekulārās pārbaudes	ELISA, PĶR un IC-PĶR
Dabiskā pārvešana	Nav zināms
ApMV	
Koksnes pārbaudes (brīvā dabā)	GF305 sēklstāds (3/-/2y) (inficētās lapas kļūst gaiši zaļus, dzeltenzaļus vai gaiši dzeltenus apļus, pleķus, svītras vai ozollapām raksturīgus rakstus)
Koksnes pārbaudes (siltumnīcā)	GF305 sēklstāds (5/20/12w) (inficētās lapas kļūst gaiši zaļus, dzeltenzaļus vai gaiši dzeltenus apļus, pleķus, svītras vai ozollapām raksturīgus rakstus)
Zāļveida stādu pārbaudes	Vairāk nekā 65 zāļveida augu sugas 19 augu ģintīs ir uzņēmīgas pret mehānisko inokulēšanu. Starp tām ir <i>C. quinoa</i> , <i>C. amaranticolor</i> , <i>Cucumis sativus</i> , <i>Cucurbita maxima</i> , <i>Nicotiana clevelandii</i> , <i>Petunia hybrida</i>
Seroloģiskās vai molekulārās pārbaudes	ELISA, PCR
Dabiskā pārvešana	Nav zināms
ArMV	
Koksnes pārbaudes (brīvā dabā)	Bing (3/-/2y) (izaugumi, izaugumi uz lapu apakšējām virsmām) GF305 sēklstāds (3/-/2y) (auga augšana ir aizkavēta, īsi posmi un plankumi)
Koksnes pārbaudes (siltumnīcā)	GF305 sēklstāds (5/20/12w) (auga augšana ir aizkavēta, īsi posmi un plankumi)
Zāļveida stādu pārbaudes	<i>C. quinoa</i> , <i>C. amaranticolor</i> , <i>C. sativus</i>

Seroloģiskās vai molekulārās ELISA
pārbaudes

Dabiskā pārvešana *Xiphinema diversicaudatum*

Kaitējošā rūsa (izraisa tādi tombusvīrusi, kā PAMV un CIRV)

Koksnes pārbaudes (brīvā dabā) Bing, Sam (3/-/2y) (lapu vidusdzīslu un galveno dzīslu nekroze, lapu malu asa nolocīšanās, atvašu nekroze izraisa taisnleņķa liekšanos)

Koksnes pārbaudes (siltumnīcā) -

Zāļveida stādu pārbaudes *C. quinoa*, *C. amaranticolor*, *C. Sativus*

Seroloģiskās vai molekulārās ELISA
pārbaudes

Dabiskā pārvešana nezināms

CGRMV

Koksnes pārbaudes (brīvā dabā) Kwanzan, Shirofugen (3/-/2y) (lapotnes epinastija, lapu vidusdzīslu vai sānu dzīslu nekroze, inficētās lapas savijas un sagriežas. Veidojoties gareniskām rievām, miza bieži kļūst raupja,)

Koksnes pārbaudes (siltumnīcā) -

Zāļveida stādu pārbaudes Nav iespējamas, pagaidām

Seroloģiskās vai molekulārās PCR
pārbaudes

Dabiskā pārvešana Nav zināms

CLRV

Koksnes pārbaudes (brīvā dabā) Bing (3/-/2y) (sklerotiski apļi uz lapām, plankumi)
GF305 sēkltāds (3/-/2y) (auga augšana ir aizkavēta, īsi posmi un plankumi, neliela lapu saritināšanās)

Koksnes pārbaudes (siltumnīcā) GF305 sēkltāds (5/20/12w) (auga augšana ir aizkavēta, īsi posmi un plankumi, neliela lapu saritināšanās)

Zāļveida stādu pārbaudes *C. quinoa*, *Nicotiana* spp., *C. sativus*

Seroloģiskās vai molekulārās ELISA
pārbaudes

Dabiskā pārvešana Pārnēsāšana ar nematožu starpniecību ir apšaubāma

LChV-1 and LChV-2

Koksnes pārbaudes (brīvā dabā) Sam, Canindex (3/-/2y) (sākot no augusta beigām, lapas sārtojas vai kļūst bronzas krāsā, lapu dzīslu bojums gar vidusdzīslu un galvenās dzīslas saglabājas zaļas)

Koksnes pārbaudes (siltumnīcā) -

Zāļveida stādu pārbaudes -

Seroloģiskās vai molekulārās PCR
pārbaudes

Dabiskā pārvešana Nav zināms

CMLV

Koksnes pārbaudes (brīvā dabā) Sam, Bing (3/-/2y) lapu (neregulāri sklerotiski raibumi un deformēšanās)

Koksnes pārbaudes (siltumnīcā) GF305 sēkltādsng/issu de semence (5/20/12w) (spēcīgi sastiepumi izraisa dzeltenīgus raibumus gar lapu malām. Latentās deformācijas var atklāt, veicot šķērsaizsardzību. Simptomu neesamība uz Indikatoraugiem ar nopietnām deformācijām, liecina par latentās CMLV deformācijas klātbūtni)

Zāļveida stādu pārbaudes		<i>C. quinoa</i> , <i>C. amaranticolor</i> , <i>Nicotiana occidentalis</i>
Seroloģiskās pārbaudes	vai	molekulārās ELISA (poliklonālie un monoklonālie antiķermeņi), PCR ²
Dabiskā pārvešana		<i>Eriophyes inaequalis</i>

² Atbilstoši pašreizējai pieredzei Eiropā, šīs metodes pozitīvus rezultātus sniedz tikai attiecība uz Ziemeļamerikas nošķirtajiem (izolētajiem) stādiem.

PDV

Koksnes pārbaudes (brīvā dabā)	Bing (3/-/2y) (uz lapām sklerotiski plankumi un apļi, pirmajā gadā – izaugumi gar lapu vidusdzīslām) Shirofugen (5/-/16-52w) (nekrotisks tīklojums un sveķu izdalīšanās ap pumpura, kas ievietoti 1 gadu vecās atvasēs)
Koksnes pārbaudes (siltumnīcā)	GF305 sēklstāds/issu de semence (5/20/12w) (inficētas lapas ir mazākas; auga augšana ir traucēta un posmi ir mazāki) Shirofugen (5/22-26/8w)(nekrotisks tīklojums un sveķu izdalīšanās ap pumpura, kas ievietoti 1 gadu vecās atvasēs)
Zāļveida stādu pārbaudes	<i>C. sativus</i> , <i>C. maxima</i>
Seroloģiskās vai molekularās pārbaudes	ELISA, PCR ziedputekšņi, sēklas

PNRSV

Koksnes pārbaudes (brīvā dabā)	Bing (3/-/2y) (uz lapām sklerotiski plankumi un apļi, lapveidīgi izaugumi starp dzīslām gar lapu malām) Shirofugen (5/-/16-52w) (nekrotisks tīklojums un sveķu izdalīšanās ap pumpura, kas ievietoti 1 gadu vecās atvasēs)
Koksnes pārbaudes (siltumnīcā)	GF305 sēklstāds (5/20/12w) (uz inficētajām lapām nekrotiski neregulāri ; atvašu nekroze) Shirofugen (5/22-26/8w)(nekrotisks tīklojums un sveķu izdalīšanās ap pumpura, kas ievietoti 1 gadu vecās atvasēs)
Zāļveida stādu pārbaudes	<i>C. quinoa</i> , <i>C. sativus</i> , <i>C. maxima</i>
Seroloģiskās vai molekularās pārbaudes	ELISA, PCR
Dabiskā pārvešana	ziedputekšņi, sēklas

RpRSV (izraisa Fefingera slimību)

Koksnes pārbaudes (brīvā dabā)	Bing (3/-/2y) (dzeltenzaļi taukaini punktiņi, lapas krasi deformējas. Sekundārie simptomi: asas lapas, tās ir šauras, stīvas un trauslas.)
Koksnes pārbaudes (siltumnīcā)	GF305 sēklstāds (5/20/12w) (dzeltenīgi sklerotiski raibumi gar lapu vidusdzīslu, lapas ir viļņainas un šauras)
Zāļveida stādu pārbaudes	<i>C. quinoa</i> , <i>C. amaranticolor</i>
Seroloģiskās vai molekularās pārbaudes	ELISA, PCR
Dabiskā pārvešana	sēklas, nematodes (<i>Longidorus macrosoma</i> un <i>L. elongatus</i>)

SLRSV

Koksnes pārbaudes (brīvā dabā)	Bing (3/-/2y) (asas, šauras lapas, plankumi)
Koksnes pārbaudes (siltumnīcā)	GF305 sēklstāds (5/20/12w) (auga augšana ir traucēta, īsi posmi un plankumu veidošanās)
Zāļveida stādu pārbaudes	<i>C. quinoa</i> , <i>C. sativus</i> , <i>C. amaranticolor</i>
Seroloģiskās vai molekularās pārbaudes	ELISA
Dabiskā pārvešana	<i>Xiphinema diversicaudatum</i>

TBRV

Koksnes pārbaudes (brīvā dabā)	GF 305 sēklstāds, Elberta, Bing (3/-/2y) (auga augšana ir traucēta, īsi posmi un plankumu veidošanās)
Koksnes pārbaudes (siltumnīcā)	GF305 sēklstāds (5/20/12w) (auga augšana ir traucēta, īsi posmi un plankumu veidošanās)

Zāļveida stādu pārbaudes	<i>C. quinoa, C. sativus, C. amaranticolor</i>
Seroloģiskās vai molekularās pārbaudes	ELISA
Dabiskā pārnešana	<i>Longidorus elongatus, L. attenuatus</i>

Tabula nr. 3. Metodes ķiršu koku vīrusa veidu slimību atklāšanai

Ķiršu koku nekrotiskie rūsas raibumi

Koksnes pārbaudes (brīvā dabā)	Sam (3/-/2y) (jauno lapu dzeltēšana, smalks dzīslu raksts un apļveida plankumi, kam seko nekroze)
Koksnes pārbaudes (siltumnīcā)	-
Zāļveida stādu pārbaudes	-
Seroloģiskās vai molekularās pārbaudes	PĶR ar CGRMV saistītajām kārtām
Dabiskā pārnešana	Nav zināms

Ķiršu koku rūsas raibumi (Eiropas)

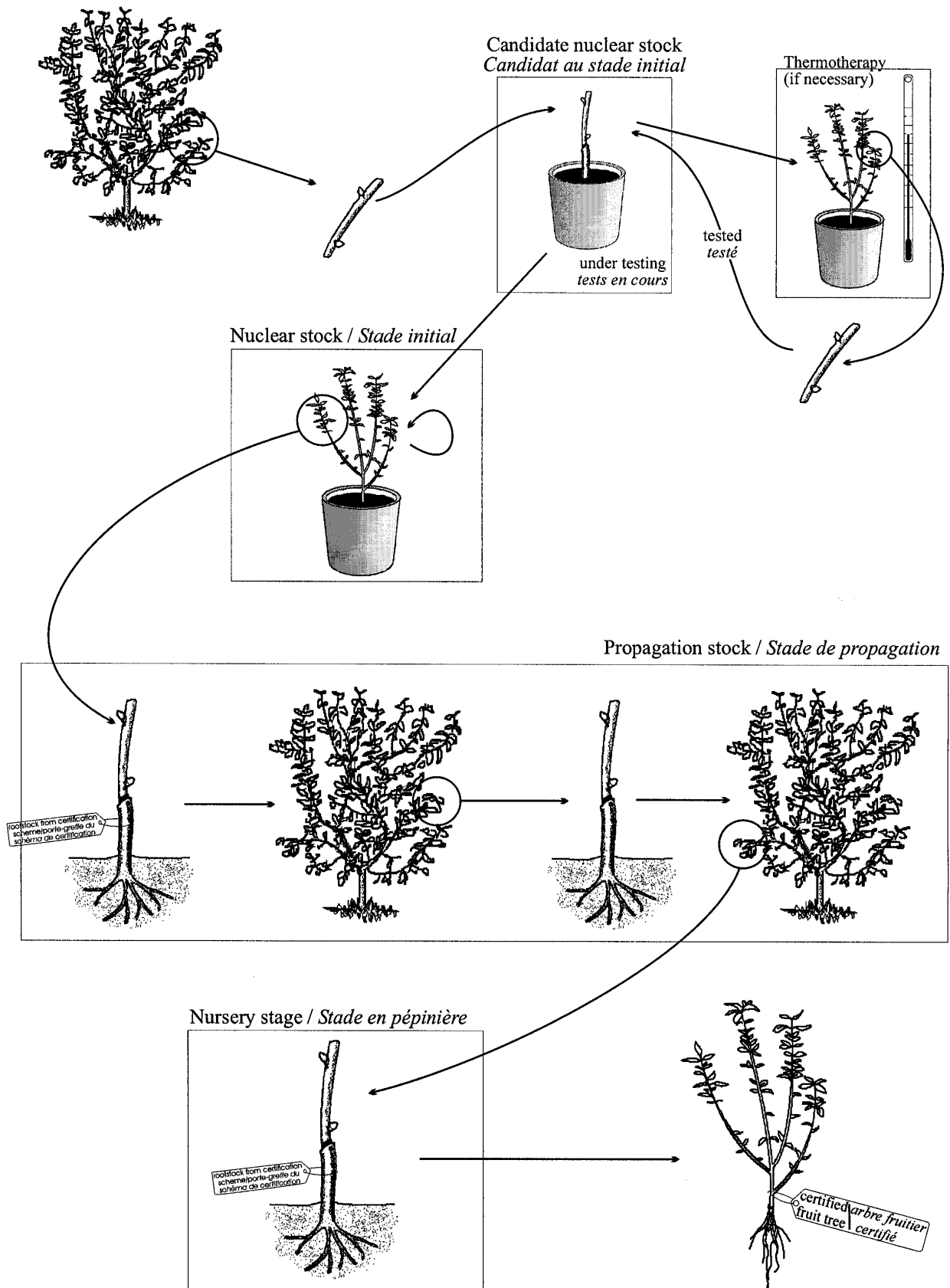
Koksnes pārbaudes (brīvā dabā)	Sam, Bing (3/-/2y) (inficētās lapas pamazām kļūst blāvi zaļā krāsā. Augusta beigās lapas kļūst rūsganas vai uz tām parādās bronzas krāsas raibumi)
Koksnes pārbaudes (siltumnīcā)	-
Zāļveida stādu pārbaudes	Nav iespējamas, pagaidām
Seroloģiskās vai molekularās pārbaudes	PĶR ar CGRMV- saistītajām kārtām
Dabiskā pārnešana	Nav zināms

Tabula nr. 4. Ķiršu koku vīrusus pārnēsājošās nematodes

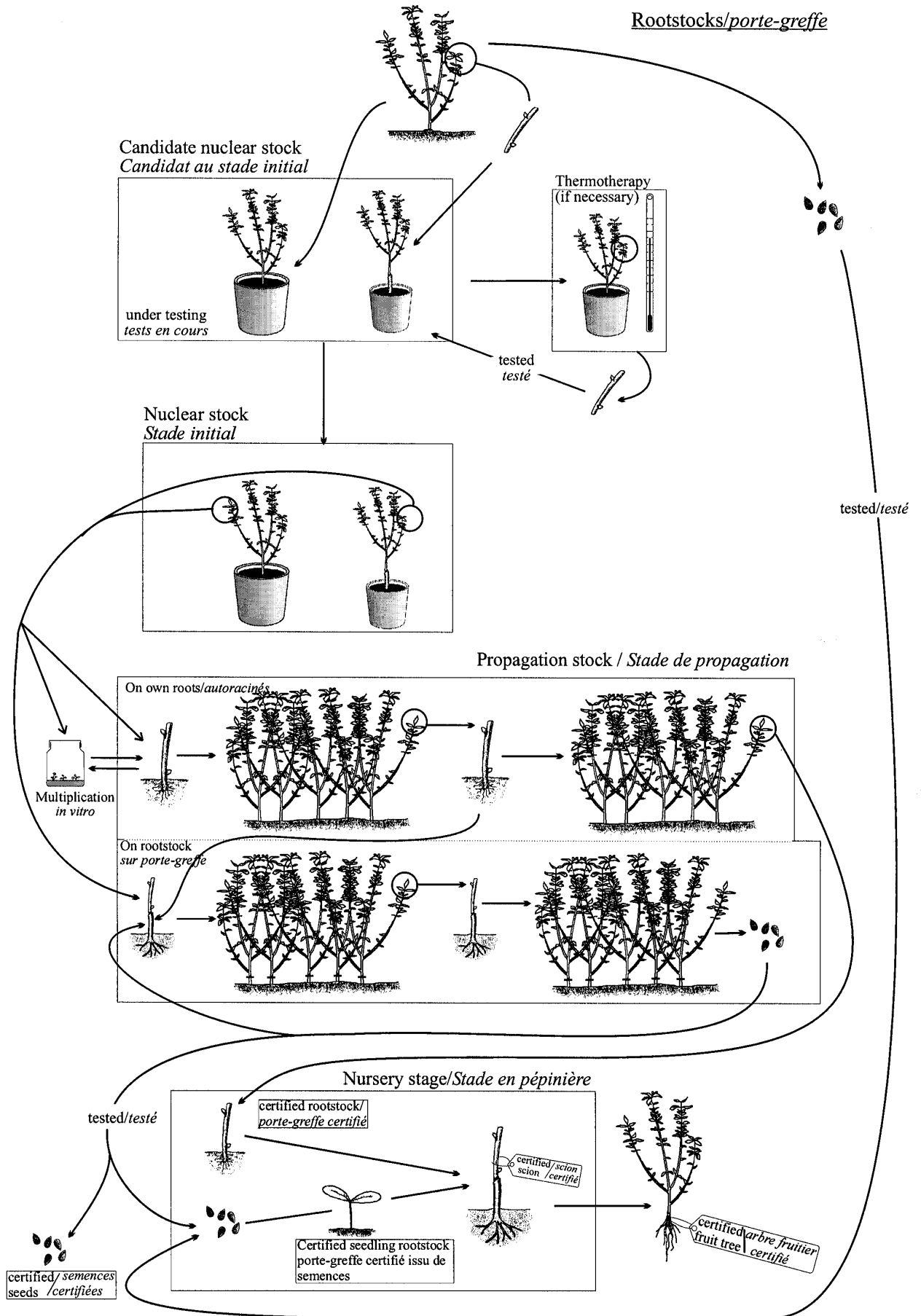
Pārnēsājošās nematodes	Vīrusi
<i>Xiphinema diversicaudatum</i>	ArMV, SLRSV
<i>Longidorus macrosoma</i>	RpRSV
<i>Longidorus attenuatus</i>	TBRV
<i>Longidorus elongatus</i>	TBRV, RpRSV

Attēls 1: Ķiršu koku sertificēšanas shēmas posmu attēlojums: atvašu materiāls.

Scion varieties/variétés



Attēls 2: Ķiršu koku sertificēšanas shēmas posmu attēlojums: sakneņi.



Attēls 1: Ķiršu koku sertificēšanas shēmas posmu attēlojums: atvašu materiāls.

Atvašu paveidi

Kandidātaugu sākotnējais potcelms

Siltumterapija

(ja ir nepieciešama)

Pārbaudē

pārbaudīts

Sākotnējais potcelms

Pavairošanas stādu krājums

Attēls 2: Ķiršu koku sertificēšanas shēmas posmu attēlojums: sakneņi.

