

Sertificēšanas shēmas

PRET PATOGĒNIEM PĀRBAUDĪTAIS ĀBEĻU (MALUS), BUMBIERU (PYRUS) UN CIDONIJU (CYDONIA) MATERIĀLS

Īpašais mērķis

Standartā aprakstīta pret patogēniem pārbaudītā ābeļu, bumbieru un cidoniju stādāmā materiāla ražošana.

Īpašā apstiprināšana un labojumi

Pirmoreiz apstiprināts 1990.gada septembrī, kā daļa no EPPD standarta PM 4/1.
Kā atsevišķs standarts apstiprināts 1999.gada septembrī.

Šī sertifikācijas shēma pret patogēniem pārbaudītajam ābeļu (*Malus*), bumbieru (*Pyrus*) un cidoniju (*Cydonia*) materiālam sniedz detalizētas vadlīnijas, attiecībā uz potēto augļu koku šķirņu ražošanu, veģetatīvi pavairotiem potcelmiem un sējeņu potcelmiem. Shēma ir piemērota arī šo ģinšu dekoratīvo koku sertifikācijai.

Augu materiālam, kas ražots saskaņā ar šo sertifikācijas shēmu, jābūt ņemtam no sākotnējā materiāla etalonaugu stādiem, kuri ir pārbaudīti un nesatur norādītos patogēnus, un ir izaudzēti apstākļos, kuros ir mazināta iespēja inficēties ar citiem svarīgākajiem ģintij 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 EPPD atbildīgā komisija par augļaugu stādu sertifikāciju un kuru apstiprinājusi EPPD Padome (OEPP/EPPD, 1992.)

Shēmas apraksts

Sertificētu ābeļu, bumbieru un cidoniju koku un potcelmu ražošanai ir jāveic šādi pasākumi:

- 1 Atlase pēc pomoloģiskās kvalitātes: atlasiet atsevišķus katras sugas stādus, potcelmu veidus vai šķirnes. Pretējā gadījumā, no vīrusiem brīvs izejmateriāls ir jāimportē no citām valstīm.
- 2 Etalonaugu ražošana: sākotnējie etalonu kandidātaugi tiek izaudzēti, acojot vai potējot šo materiālu uz etalonaugu kategorijai atbilstošiem potcelmiem. Augi ir uzturami apstākļos, kuros tiem garantēta drošība no infekcijām.

Etalonaugu kandidāti ir pārbaudāmi, izmantojot shēmā norādītās visstingrākās procedūras. Pretējā gadījumā, no vīrusiem brīvie augi (etalonaugu kandidāti) ir iegūstami izmantojot termoterapiju,

kam seko atbilstoša pārbaude. Etalonaugu grupā iekļūst tikai tie etalonaugu kandidāti, kuri atbilst visām prasībām.

- 3 Etalonaugu saglabāšana: etalonaugi 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 Pavairojamā bāzes materiāla ražošana: pavairojamā materiāla stādi ir iegūstami no etalonaugu materiāla pēc iespējas mazāka skaita posmos, apstākļos, kuros tiem nodrošināta drošība no infekcijām, pēc vajadzības veicot atkārtotu testēšanu.
- 5 Sertificētu stādu ražošana: sertificētie stādi tiek izaudzēti uzpotējot pavairošanas bāzes materiālu uz potcelmiem, kas atbilst vismaz bāzes materiāla stādu standartam.

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

Sertifikācijas shēmu īsteno oficiāla iestāde vai oficiāli reģistrēta, specializēta organizācija, kas atbilst noteiktajiem kritērijiem (OEPP/EPPD, 1993). Reģistrācijas prasības iestādēm, kuras veic tikai pēdējo ražošanas posmu (5.), 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 sertifikācijas 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 pārlicinātos par augu materiāla veselības atbilstību.

1. Etalonaugu kandidātu atlase

Šķirnes

Shēmā iekļaujama viena vai vairāki katras šķirnes ražojoši koki ar tipiskām agronomiskām īpašībām ir atlasāmi augļu dārzos un/vai no pomoloģiskajiem izmēģinājumu laukiem. Pretējā gadījumā, no vīrusiem brīvu izejmateriālu var importēt no citām valstīm. Materiāls, kurš tiek ievests no valstīm, kas nav EPPA dalībvalstis, ir arī jāpārbauda, izmantojot Starptautiskās Dārzkopības zinātnes biedrības (ISHS) ieteiktās metodes (skatīt Pielikumu II) uz visiem citiem vīrusiem, kas sastopami šai ģintij augu materiāla izcelsmes reģionā.

Veģetatīvi pavairotie potcelmi

Shēmā iekļaujama veselīga izskata un spēcīgi individuālie stādi ar labām saknēm un ar zināmām katra potcelmu veida agronomiskām īpašībām ir atlasāmi no dažādām pieraušņu dobēm vai mātesaugiem. Pretējā gadījumā, no vīrusiem brīvu izejmateriālu var importēt no citām valstīm. Materiāls, kurš tiek ievests no valstīm, kas neietilpst EPPA teritorijā, ir jāpārbauda līdzīgi kā šķirnes (skatīt augstāk).

Sējeņu potcelmi

Ābeļu, bumbieru un cidoniju sēklas tiek uzskatītas par brīvām no vīrusiem. Tomēr sēklu ražošanai izvēlētajiem kokiem jābūt bez vīrusu simptomiem, un tos vēlams izvēlēties no vietām, par kurām ir zināms, ka tajās nav augļu koku viroīdu. Jābūt pārliecinātiem, ka šie augi rada vienveidīgus pēcnācējus, pretējā gadījumā minētais ir jānoskaidro. Kad sēklas ir izdīgušas, sējeņi ir jāaudzē, līdz tie sasniedz pietiekamu izmēru, līdzīgos apstākļos, kādos audzēts etalonaugu (skatīt 3.punktu) vai bāzes materiāls (skatīt 4.punktu) šķirnēm un veģetatīvi pavairotiem potcelmiem.

2. Etalonaugu ražošana

Šķirnes

Vispārējā kārtība

Pomoloģiski izvēlēto koku pavairošanas materiālu aievāc un uzaco vai uzpotē uz etalonaugu potcelmiem. Šie augi (podos audzētie etalonaugu kandidātaugi) testu veikšanas laikā ir uzturami apstākļos, kurā tiem garantēta drošība no infekcijām, kas var rasties sakņu saskarsmes, putekšņu, gaisā vai augsnē pārnēsāto slimību saskarsmes rezultātā.

Stādi audzējami sterilizētā substrātā. Atsevišķie etalonaugu kandidātaugi ir jāpārbauda pret vīrusiem, fitoplazmām un vīrusa veida slimībām, kas norādītas tabulā Nr. 1, izmantojot metodes, kas aprakstītas pielikumos I un II.

Etalonauga kandidātaugu var iekļaut setalonaugu kategorijā un pārvietot uz etalonaugu tikai tad, ja tas uzrāda negatīvus testu rezultātus par visiem tabulā Nr. 1 norādītajiem patogēniem.

Atveseļošanas procedūra

Attiecībā uz šķirnēm, kurām neviens no atlasītajiem kokiem neuzrādīja negatīvu testu rezultātu, materiāls ir sagatavojams termoterapijai, uzacojot vai uzpotējot pavairošanas materiālu uz vairākiem podos iedēstītiem potcelmiem.

Pēc tam šie augi ir apstrādājami ar siltumu (Pielikums III), un jaunie izaudzētie stādi (parasti, dzinumu galotņu potējumi) ir jāpārbauda pēc vienas augšanas sezonas, kas ir pietiekami ilgs laiks, lai ļautu potenciāli klātesošajiem vīrusiem attīstīties. Lai iznīcinātu viroīdus, apstrāde ar siltumu vienmēr nav pietiekama, un tāpēc ir nepieciešams izmantot citas metodes (Pielikums III). Etalonauga kandidātaugu var iekļaut etalonaugos un pārvietot uz etalonaugu kolekciju tikai tad, ja tas uzrāda negatīvus testu rezultātus. Gadījumā, ja noteiktai šķirnei ir augsta iespējamība, ka visi etalonaugu kandidātaugi ir inficēti ar vīrusiem, laiku iespējams ietaupīt, izlaižot pirmo pārbaudes reizi un uzreiz pārejot pie apstrādes ar siltumu.

Veģetatīvi pavairotie potcelmi

Vispārējā kārtība

Atsevišķi augi un spraudņi ir jāatlasa un jāizaudzē uz savām saknēm vai arī jāuzaco vai jāuzpotē uz viegli atšķirama potcelmu veida. Visā pārbaudes laikā šie podos audzētie etalonauga kandidāti ir uzglabājami apstākļos, kuros tiem garantēta drošība no infekcijām, kas var rasties sakņu saskarsmes rezultātā vai pa gaisu pārnēsāto slimību saskarsmes rezultātā. Stādi audzējami sterilizētā substrātā. Atsevišķie etalonaugu kandidātaugi ir jāpārbauda pret vīrusiem, fitoplazmām un vīrusa veida slimībām, kas norādītas tabulā Nr. 1, izmantojot metodes, kas aprakstītas pielikumos I un II. Etalonaugu kandidātaugu var iekļaut etalonaugu kategorijā un pārvietot uz etalonaugu kolekciju tikai tad, ja tas sniedz negatīvus testu rezultātus.

Atveseļošanas procedūra

No tiem potcelmu 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 vienas augšanas sezonas, augi ir jāpārbauda, jo ir pagājis pietiekami ilgs laiks, lai ļautu potenciāli klātesošajiem vīrusiem attīstīties. Lai iznīcinātu viroīdus, apstrāde ar siltumu vienmēr nav pietiekama, un tāpēc ir nepieciešams izmantot citas metodes (Pielikums III). Etalonauga kandidātaugu var iekļaut etalonaugos un pārvietot uz etalonaugu kolekciju tikai tad, ja tas sniedz negatīvus testu rezultātus.

Citu kaitīgo organismu pārbaude

Visi etalonaugu kandidātaugi (šķirnes un veģetatīvi pavairotie potcelmi), paralēli pārbaudēm pret slimībām un patogēniem, kas minēti tabulā Nr.1, ir jāpārbauda pret citu kaitēkļu klātbūtni, kuri var pāriet uz pavairojamo materiālu.

Īpaši, šāda kārtība ir jāievēro attiecībā uz drošības nodrošināšanu pret *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia amylovora* (OEPP/EPPO, 1992), *Pseudomonas* spp., *Armillariella mellea*, *Chondrostereum purpureum*, *Glomerella cingulata*, *Pezicula malicorticis* un *P. alba*, *Nectria galligena*, *Phytophthora* spp., *Roessleria pallida*, *Verticillium* spp., *Quadrascidiotus perniciosus* un *Eriosoma lanigerum*.

3. Etalonaugu uzturēšana

Etalonaugi ir uzglabājami apstākļos, kuros tie atrodas drošībā no (atkārtotas) inficēšanas sakņu saskarsmes, putekšņu vai pa gaisu pārnēsāto vīrusu saskarsmes rezultātā, vēlams iestādītī podos ar sterilizētu substrātu, atbilstoši projektētā, pret kukaiņu iekļūšanu drošā siltumnīcā. Katras sugas, šķirnes vai potcelmu veida sākuma materiāla daļu atļauts uzglabāt *in vitro*, kā rezerves materiālu, tomēr pēc tam, kad augi atstāj *in vitro* apstākļus, visi šī materiāla augi būs jāpārbauda attiecībā uz to agronomiskajām īpašībām, jo īpaši atbilstību šķirnei.

Lai mazinātu inficēšanas iespēju, jo īpaši ar *E. amylovora*, vēlams nepieļaut etalonaugu ziedēšanu. Atbilstību šķirnei var pārbaudīt novērojot augļus uz tiem augiem, kuri pavairoti no etalonaugiem, bet ir turēti no etalonaugiem nodalītā vietā.

Vairākas reizes gadā augi ir vizuāli jāapskata un jāpārbauda, vai nav redzami vīrusu vai vīrusu veida slimību simptomi, kā arī pret citiem 2.punktā minētajiem kaitīgajiem organismiem. Ir ieteicams atkārtoti pārbaudīt atsevišķus etalonaugus vismaz vienu reizi visā to izmantošanas laikā uz 1. tabulā minēto patogēnu klātbūtni. Ikviens augs, kurš sniedz pozitīvu testu rezultātu vai tam redzami vīrusu, vīrusa veida slimību vai citu 2.punktā minēto kaitīgo organismu simptomi, ir nekavējoties jāizņem no etalonaugu kolekcijas.

4. Bāzes materiāla ražošana

Etalonaugi ir pavairojami pēc iespējas mazāk posmos. Lai vajadzīgo bāzes augu skaitu iegūtu, etalonauga materiāls ir uzacojams vai uzpotējams uz identiska sertifikācijas statusa vai sējeņu potcelmiem, kas izaudzēti etalonaugiem atbilstošos potcelmiem apstākļos. Bāzes materiāls ir audzējams laukos, nošķirti no potenciālajiem infekciju avotiem, jo īpaši augiem, kuri ir mājvieta fitoplazmām vai *E. amylovora*. Vairākas reizes gadā bāzes materiāla augi ir vizuāli jāapskata un jāpārbauda, vai nav redzami vīrusu simptomi, un jāpārbauda arī pret citiem 2.punktā minētajiem kaitīgajiem organismiem. Būtu vēlams regulāri atkārtoti pārbaudīt daļu ābeļu bāzes materiāla pret ābolu proliferācijas fitoplazmu, jo īpaši vietās, kur šī slimība ir izplatīta. Attiecībā uz bumbierēm, vietās, kur izplatīta „pear decline” fitoplazma, ir ieteicams pēc nejaušības principa veikt bumbieru bāzes materiāla atkārtotu pārbaudi un pēc tam pārbaudīt jebkuru augu, par kuru ir aizdomas, ka tas varētu būt inficēts. Visi inficētie augi ir jāiznīcina un, ja ir redzamas pazīmes, kas liecina, ka infekcija ir pārmantota no iepriekšējās

paaudzes stādiem, tad ir ieteicams iznīcināt visus attiecīgās partijas s stādus un veikt atkārtotu iespējamās izcelsmes stāda pārbaudi.

Lai pārbaudītu augu pomoloģiskās īpašības, var būt nepieciešama koku ziedēšana, tomēr jāpiebilst, ka ziedēšana var draudēt ar inficēšanu ar *E. amylovora*, jo īpaši, vietās, kur šis patogēns ir izplatīts. Nepieciešams veikt augu vizuālu apskati attiecībā uz iespējamām mutācijām, jo īpaši šķirnes ar augļu krāsu variācijām, spūrtipa kokiem un ģenētiskiem traucējumiem (himēras, utml.) Šī ir iespēja pirmo reizi veikt augļu novērtējumu, tomēr ir jāatzīmē, ka potcelma veids var ietekmēt augļu īpašības.

5. Sertificētu stādu ražošana

Lai veiktu sertificētu augļu koku ražošanu, potzaru materiālu materiālu nepieciešams uzpotēt vai uzacot tikai uz potcelmiem ar identisku vai augstāku sertifikācijas statusu. Šie stādi ir audzējami laukos, kas ir nošķirti no potenciāliem infekciju avotiem, jo īpaši no tiem saimniekaugiem, kuri ir mājvieta fitoplazmām vai *E. amylovora*. Lai stādi tiktu sertificēti, oficiālām iestādēm ir jāveic to pārbaude pret vīrusu, vīrusu veida slimību vai citu 2.punktā minēto kaitīgo organismu simptomiem. Augi, kuriem konstatēti šādi simptomi, ir iznīcināmi, bet pārējie var tikt sertificēti.

6. Sertificēšanas shēmas administrēšana

Shēmas uzraudzība

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

Sertificētā materiāla izmantošanas un statusa kontrole

Visā sertificēšanas shēmas laikā ir jābūt skaidrai katra auga izcelsmei, lai konstatējot veselības vai auga atbilstības šķirnei problēmas, būtu iespējams izsekot to avotu. Bāzes materiāla izmantošanas pārbaudi audzētavās sertificētu stādu ražošanā veic oficiāla vai oficiāli pilnvarota organizācija, kura uzrauga šādu materiāla veselību, izcelsmi un daudzumu, veicot lauka pārbaudes klātienē, kā arī pārbaudot audzētavu iesniegtos uzskaites žurnālus un dokumentus. Īstenojot audzētavu augu aizsardzības programmu un veicot pārbaudi vizītes, ir jāņem vērā arī citi nozīmīgi kaitīgie organismi, kuri var ietekmēt stādu kvalitāti, ar mērķi, lai augļu ražotājiem piegādātie sertificētie stādi būtu principā brīvi no šādiem organismiem. Sertificētam augļu koku materiālam, kas paredzēts eksportam, ir jāatbilst importētājvalstu fitosanitārajiem noteikumiem.

Sertificētajiem stādiem, kas ir izgājuši visu sertifikācijas shēmu, ir jābūt apzīmētiem ar oficiālu sertifikātu (tā var būt arī informatīva etiķete), uz kuras norādīta sertifikāta izdevējinstāde, stāda ražotājs un stādu sertifikācijas statuss.

1. PIELIKUMS

Vadlīnijas par pārbažu procedūrām

1. Kokveida indikatoraugu pārbaude (laukā un siltumnīcās)

Kokveida indikatoraugu izmantošana jebkurā sertifikācijas programmā jāprojām ir obligāts pasākums. Šāda pārbaude nepieciešama, jo pastāv slimības, no kurām dažas ir ļoti būtiskas un kuras iespējams atklāt tikai uz kokveida indikatoraugiem. Metode sastāv no indikatoraugu potēšanas ar potzariem no etalonaugu kandidātaugiem vai no augiem, par kuriem ir aizdomas, ka tie ir inficēti, un indikatoraugu jauno dzinumus un/vai augļu novērošanas, vai tiem nav konstatējami attiecīgi simptomi. Šādi simptomi gandrīz droši parasti ir specifiski un daudzu slimību gadījumā var liecināt par to esamību.

Ja pārbaude tiek veikta siltumnīcā, tai jābūt aprīkotai ar apkures un dzesēšanas iekārtu, lai nodrošinātu pareizu temperatūru, tādā veidā atvieglojot simptomu izpausmi (temperatūras intervāls 18 - 25°C) (2. Pielikums). Siltumnīcā ir jāizmanto vismaz trīs katra indikatorauga stādi. Indikatoraugi, kas aug brīvā dabā (3 - 5 augi no katra) ir novērojami vismaz 2 gadus vai, attiecībā uz dažām slimībām – vismaz divus augļu ražas periodus (4-5 gadus).

2. Lakstaugu pārbaude (siltumnīcās)

Lakstaugu kā indikatoraugu izmantošana ļauj noteikt mehāniski pārnēsātos vīrusus, tajā skaitā maznozīmīgos. Šī metode ir izmantojama kā papildu paņēmieni, bet ne aizstājējs citām diagnostikas procedūrām. Tā var būt noderīga, piemēram, sākotnējai inficēto stādu atlasīšanai vai pārbaudēm pēc nejaušības principa. Lakstaugu kā indikatoraugu pārbaude ir jāveic siltumnīcā, kas aprīkota ar apkures un dzesēšanas iekārtu (temperatūras intervāls 18 - 25°C). Ir jāizmanto vismaz pieci katra indikatorauga stādi.

3. Pārbaude ar "ELISA" testu

"ELISA" tests ļauj veikt lielapjoma pārbaudes attiecībā uz augļu koku vīrusiem, kuriem ir pieejami poliklonālie un/vai monoklonālie antiserumi. Tomēr, kā jebkurai antiviēlu metodei, arī šai pastāv noteikti ierobežojumi, piemēram, zema vīrusu koncentrācija kokā, vīrusu neregulārs izvietojums vai noteiktos gadalaikos neatklājami vīrusi.

4. PQR (PCR)

Polimerāzes ķēdes reakciju (PQR, PCR) var izmantot, lai atklātu atsevišķus vīrusus, viroīdus un ābeļu proliferācijas un bumbieru nīkuļošanas „pear decline” fitoplazmas; tā ļauj atklāt arī vīrusa veida slimības, kā rievainība un nīkuļošana un **platicarpa mizas nekroze**. Seroloģiskos un molekulāros testus iespējams apvienot, šādā veidā paaugstinot katras metodes jutīgumu, piemēram, transkriptāze – PQR (IC-RT-PQR).

5. Molekulārā krustošana

Molekulāro krustošanu var izmantot viroīdu un atsevišķu vīrusu atklāšanai.

6. DAPI

DAPI metode (izmantojot fluorescējošu mikroskopiju pēc krāsošanas ar nukleīnskābes balinātāju 4,6 - diamīns-2-fenilindols) ļauj veikt ātru mazapjoma pārbaudi pret fitoplazmu slimībām, tomēr šī metode nav tik jutīga kā PQR.

2. PIELIKUMS

Vadlīnijas vīrusu vai slimību atklāšanai

levads

Katram vīrusam un slimībai tabulās nr. 2 un 3 ir norādītas slimību atklāšanas metodes ar šādiem nosaukumiem:

- kokaugu pārbaudes (brīvā dabā): pārbaudes uz koksnes indikatoraugiem brīvā dabā;
- kokveida pārbaudes (siltumnīcā): pārbaudes uz koksnes indikatoraugiem siltumnīcā;
- Lakstaugu kā indikatoraugu pārbaudes: siltumnīcā veicamas pārbaudes uz lakstaugiem-indikatoraugiem;
- seroloģiskās vai molekulārās pārbaudes: izmantojot ELISA, apgrieztās transkriptāzes-polimerāzes ķēdes reakciju (RT-PQR), imūnsagūstošo PQR (IC-RT-PQR metodes) un molekulāro krustošanu;
- mikroskopija = DAPI pārbaudes metode vai elektronu mikroskopija.

Attiecībā uz kokaugu pārbaudēm, indikatoraugi ir norādīti sarakstā, un aiz katra iekavās ir redzams skaitlis, kurš norāda atkārtojumu skaitu, temperatūru izteiktu °C (pārbaudēm siltumnīcās), pārbaudes ilgumu, (d – dienas, n – nedēļas, g – gadi, a – augļu ražošanas gadu skaits) un beigās – neliels simptomu apraksts. Kopumā, kokveida indikatoraugu izmantošana lauka apstākļos vienmēr ir nepieciešama, lai noskaidrotu etalonaugu brīvību no vīrusiem, tāpēc kokveida indikatoraugu pārbaudes vienmēr tiek pieprasītas. Lakstaugu kā indikatoraugu pārbaudes, seroloģiskās pārbaudes vai RT-PQR testi tiek pārsvarā izmantoti, lai ātri atsijātu kandidātmateriālu un taupīgi atsijātu inficētos stādus, vai arī lai veiktu pavairojamā materiāla atkārtotu pārbaudi.

Informāciju par pārbaudēm iegūst galvenokārt no ISHS augļu koku vīrusu 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 augļaugu stādu sertificēšanas komisija, izskatot ISHS rekomendācijas, ir noteikusi tos kokveida indikatoraugus, kuru izmantošanu, balstoties uz komisijas pieredzi, tā īpaši iesaka kā efektīvu un vienkāršu. Šo metožu izmantošana neizslēdz pārējo ISHS minēto metožu lietošanas iespējamību vai tādu metožu izmantošanu, ko atsevišķas personas atzinušas par apmierinošām vietējos apstākļos.

PIELIKUMS III

Vadlīnijas par atvaseļošanas kārtību

Termoterapija

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

„In vitro” metodes vīrusu un viroīdo infekciju iznīcināšanai

Ābeļu un bumbieru šķirnēm, *in vitro* metodes kopumā jāizmanto ar apdomu, jo šīs metodes var izraisīt ģenētiskas un/vai fenotipiskas izmaiņas daudz lielākā mērā nekā tradicionālās dārzkopības metodes. Parasti termoterapija ir iecienītākā metode vīrusu iznīcināšanai. Gadījumā, ja ir iesaistītas viroīdās infekcijas, ir jāizmanto *in vitro* metodes, jo viroīdi kopumā nav jūtīgi pret termoterapiju. Pamatmetodes aprakstu ir sagatavojis Cimmermans (Zimmermann, 1989.). Pamatmetode ietver šādus posmus:

- 1 meristēmas atdalīšana no sānu pumpuriem, vēlams 0,3-0,5 mm;
- 2 dzinumumu augšana 6-12 nedēļas;
- 3 sakņu izveidošanās ar 3 līdz 4 nedēļu intervālu svaigā substrātā;
- 4 atsevišķi audzēto stādu eksplantu aklimatizācija siltumnīcā vairāku nedēļu garumā;
- 5 pēc 1 gada augšanas jāveic atkārtota pārbaude pret vīrusiem un viroīdajām infekcijām, dodot klātesošajiem vīrusiem un viroīdiem pietiekami ilgu laiku attīstīties;
- 6 pomoloģisko un dendroloģisko īpašību atkārtota pārbaude.

Kultūras vairākus mēnešus var uzglabāt pie temperatūras 4°C bez atjaunošanas. Galotnītes drīkst izžāvēt sasaldējot, izmantojot šķidru N₂ pie temperatūras -176°C pēc apstrādes ar etāna sulfoksīdu (DMSO) vai iestrādājot algināta lodītēs.

Publikācijas

Anon (1970) *La Thémothérapie des Espèces Ligneuses*. Station des cultures fruitières et maraichères à Grand-Manil, Gembloux (BE).

Anon (1998) Recommendations for pathogen detection. *Acta Horticulturae* **472**, 757-783.

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).

OEPP/EPPO (1992) EPPO Standards PM 3/40 *Erwinia amylovora* - sampling and test methods. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **22**, 225-231.

OEPP/EPPO (1993) EPPO Standards PM 4/7(1) Certification schemes. Nursery requirements - recommended requirements for establishments participating in certification of fruit or ornamentals crops. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **23**, 249-252.

Zimmerman RH (1989) In *Virus and Virus-like Diseases of Pome Fruits and Simulating Noninfectious Disorders* (ed. Fridlund P), pp. 278-283. Cooperative Extension, Washington State University, Pullman (US).

Tabula Nr.1: EPPO teritorijā sastopamie patogēni, kuri ir jāpārbauda sertifikācijas shēmās*

Saimniekaugs	Patogēna veids	Nosaukums	Saīsinājums	
<i>Ābeles (Malus spp.)</i>	Vīrusi	Ābeļu hlorotiskās lapu plankumainības trihovīruss	ĀHLP	
		Ābeļu mozaīkas ilarvīruss	ĀVM	
		Ābeļu stumbra rievainības kapilovīruss	ĀVSR	
		Ābeļu stumbra bedrainības foveavīruss	ĀSVB	
	Fitoplazmas	Ābeļu proliferācijas fitoplazma	ĀF	
	Vīrusveida slimības	ābeļu gumijotās koksnes slimība, ābeļu virālā plakanzarainība		
		Pakavveida sarētojumi		
			Ābolu kroplība: Chat fruit=neattīstītie augļi, zaļā krokošanās, augļu 'Ben Davis' grumbainība, parupja miza, ābolu zvaigžņveida plaisāšana, ābolu rūsveida gredzenplankumainība, rūsveida kārpainība	
		Viroīdi	Mizas rētveida plaisāšana †	MP
	<i>Bumbieres (Pyrus) un cidonijas (Cydonia).</i>	Vīrusi	Ābeļu hlorotiskās lapu plankumainības trihovīruss	ĀHLP
Fitoplazmas		Ābeļu stumbra rievainības kapilovīruss	ĀVSR	
		Ābeļu stumbra bedrainības foveavīruss	ĀSVB	
Vīrusveida slimības		Bumbieru nīkuļošanas fitoplazma	BF	
		bumbieru mizas plaisāšana, mizas nekroze		
		Mizas raupjainība (raupjums)		
		cidoniju kvēpainā gredzenplankumainība (ko iespējams izraisa ĀSVB)		
		Bumbieru cietgrumbainība (iespējams, izraisa ĀSVB)		
		gumijotās koksnes slimība, cidoniju dzeltenā plankumainība		
	Viroīdi	bumbieru čūlveida vēža viroīds	BR	

* Vīrusu veida slimības ar atšķirīgiem simptomiem, kuru izraisošais aģents nav zināms, vai ir tikai. Citi atšķirīgi nezināmi simptomi, kurus izraisa atsevišķi norādītie patogēni, ir aprakstīti Pielikumā II.

† Ābolu bedrainība () pieder pie tās pašas ģints, pie kuras pieder mizas plaisāšana (). Šī slimība ir konstatēta tikai vienu reizi Neapoles (Itālija) tuvumā, un par tās pārbaudēm pastāv nepietiekams daudzums informācijas, lai varētu to iekļaut šajā shēmā.

Tabula Nr.2: Ābeļu, bumbieru un cidoniju vīrusu atklāšanas metodes**Ābeļu hlorotiskā lapu plankumainība ()**

Kokaugu pārbaudes (laukā) ābelēm	<i>Malus platycarpa</i> (3/-/2 g.) (hlorotiski apļi un svītras uz lapām) un <i>Malus sylvestris</i> R 12740 7A (3/-/2 g.) (galotņu atmiršana, lapu kroplība) <i>Pyronia veitchii</i> (3/-/2 g.) (apļu un svītru mozaīka)
Kokaugu pārbaudes (laukā) bumbierēm/cidonijām	<i>Cydonia oblonga</i> C7/I (3/-/2 g.) (apļu un svītru mozaīka) A20 (3/-/2 g.) (apļu un svītru mozaīka) Beurré Hardy (3/-/2 g.) (apļu un svītru mozaīka) <i>Pyronia veitchii</i> (3/-/2 g.) (apļu un svītru mozaīka)
Kokaugu pārbaudes (siltumnīcā) ābelēm	<i>Malus platycarpa</i> (3/20/8 n.) (hlorotiski apļi un svītras uz lapām) un <i>Malus sylvestris</i> R 12740 7A (3/22/4 n.) (galotņu atmiršana, lapu kroplība)
Kokaugu pārbaudes (siltumnīcā) bumbierēm/cidonijām	Nouveau Poiteau (3/22/10 n.) (apļu un svītru mozaīka)
Lakstaugu pārbaudes	<i>Chenopodium quinoa</i> , <i>C. amaranticolor</i> , <i>Nicotiana occidentalis</i> '37B'
Seroloģiskās vai molekulārās pārbaudes	ELISA, RT-PĶR, IC-RT-PĶR.
Dabiskā pārvešana	Nav zināms

Ābeļu virālā mozaīka ()

Kokaugu pārbaudes (laukā)	Golden Delicious(3/-/2 g) (hlorotiskā mozaīka uz lapām) Lord Lambourne (3/-/2 g) (hlorotiskā mozaīka uz lapām) *
Kokaugu pārbaudes (siltumnīcā)	Indikatori nav ieteikti
Lakstaugu stādu pārbaudes	Vairāk nekā 65 lakstaugu sugas 19 ģintīs ir uzņēmīgas pret mehānisko inokulēšanu. Starp tām ir <i>Chenopodium quinoa</i> , <i>C. Amaranticolor</i> , <i>Cucumis sativus</i> , <i>Cucurbita maxima</i> , <i>Nicotiana clevelandii</i> , <i>Petunia hybrida</i> . Tomēr, pāreja uz lakstaugiem var būt smaga.
Seroloģiskās vai molekulārās pārbaudes	ELISA
Dabiskā pārvešana	Nav zināms

Ābeļu stumbra virālā rievainība ()

Kokaugu pārbaudes (laukā) ābelēm	Virginia Crab (3/-/3 g.) (nekrotiskas rievās uz koksnes cilindra)
Kokaugu pārbaudes (laukā) bumbierēm/cidonijām	Virginia Crab (3/-/3 g.) (nekrotiskas rievās uz koksnes cilindra) <i>Pyronia veitchii</i> (3/-/3 g.) (nekrotiskas rievās uz koksnes cilindra)
Kokaugu pārbaudes (siltumnīcā) ābelēm	Virginia Crab (3/26/4 n.) (nekrotiskas rievās uz koksnes cilindra) <i>Malus micromalus</i> GMAL273 (4/26-32/4 n.) (hlorotiski/nekrotiski plankumi, epinastija, stumbra nekroze)
Koksnes pārbaudes (siltumnīcā) bumbierēm/cidonijām	Virginia Crab (3/26/8n.) (nekrotiskas rievās uz koksnes cilindra)

* Tulk. Piez. – Var būt noderīgas arī šķirnes ‘Rubin’ (kazahu), ‘Ausma’.

Lakstaugu pārbaudes	<i>Chenopodium quinoa</i>
Seroloģiskās vai molekulārās pārbaudes	ELISA, RT-PĶR
Dabiskā pārnešana	Nav zināms
Ābeļu virālā stumbra bedrainība ()	
Kokaugu pārbaudes (laukā) ābelēm	<i>Pyronia veitchii</i> (3/-/2 g.) (bedrītes ksilēmā) (koksne) Spy 227 (3/-/2 g.) (epinastija un nīkuļošana) un Virginia Crab (3/-/3 g.) (bedrītes ksilēmā)
Kokaugu pārbaudes (laukā) bumbierēm/cidonijām	Jules d'Arolles (3/-/2 g.) (dzīslu dzeltēšana /sarkani plankumi gar dzīslām) <i>Pyronia veitchii</i> (3/-/2 g.) (bedrītes ksilēmā) Virginia Crab (3/-/3 g.) (bedrītes ksilēmā)
Kokaugu pārbaudes (siltumnīcā) ābelēm	<i>Pyronia veitchii</i> (3/22/8 n.) (bedrītes ksilēmā) Spy 227 (3/24/12 n.) (epinastija un nīkuļošana) Virginia Crab (3/26/4 n.) (bedrītes ksilēmā)
Kokaugu pārbaudes (siltumnīcā) bumbierēm/cidonijām	<i>Pyronia veitchii</i> (3/22/8 n.) (bedrītes ksilēmā) Virginia Crab (3/26/8 n.) (rievas ksilēmā)
Lakstaugu pārbaudes	<i>Nicotiana occidentalis</i> ssp. <i>obliqua</i> <i>Nicotiana occidentalis</i> '37B'
Seroloģiskās vai molekulārās pārbaudes	RT-PĶR, IC-RT-PĶR
Dabiskā pārnešana	Nav zināms

Tabula Nr.3: Metodes fitoplazmu atklāšanai

Ābeļu proliferācijas fitoplazma

Kokaugu pārbaudes (laukā)	Golden Delicious*, izmanto trīs pumpurus (5/-/2 g.) (raganu slotas, palielinātas pielapes)
Seroloģiskās vai molekulārās pārbaudes	PĶR
Mikroskopija	DAPI metode
Dabiskā pārnešana	Iespējams ar cikāžu starpniecību

Bumbieru nīkuļošanas fitoplazma

Kokaugu pārbaudes (laukā)	Doyenné du Comice vai <i>Pyronia veitchii</i> (3/-/2 g.) (lapu čokurošanās, lapu agrā krāsošanās agrā rudenī) (uz bumbieru sēklaudžu potcelmiem; trīs pumpuri)
Seroloģiskās vai molekulārās pārbaudes	PĶR
Mikroskopija	DAPI metode
Dabiskā pārnešana	Bumbieru lapblusīgas

* Pastāv šaubas par „Golden Delicious” metodes spēju atklāt ābeļu proliferācijas fitoplazmu un tāpēc, kā jutīgāko pārbaudes veidu, ieteicams izmantot PĶR metodi. (Bez tam šī šķirne Latvijā ir laukā nepietiekami ziemcietīga. – Tulk. piez.)

* epinastija – pastiprināta augšana orgāna augšējā daļā (kas izraisa deformāciju)

Tabula Nr.4: Metodes viroīdu atklāšanai**Ābolu plankumainība ()**

Kokaugu pārbaudes (laukā)

Golden Delicious (3/-/3 a.) (blāvi apļveida plankumi, kas izceļas uz augļu krāsas fona)

Mizas sarētojumumu viroīds ()

Kokaugu pārbaudes (laukā)

Golden Delicious (3/-/3 a.) (rētaudu vai blāvi apļveida plankumi uz augļiem)

Bumbieru čūlveida vēža viroīds ()

Kokaugu pārbaudes (laukā)

Pyrus A20 (3/-/3 y) (čūlas, līdzīgas vēzim)

Tādas slimības, kā ābolu plankumainība un mizas sarētojumi, izraisa viena un tā paša aģenta () molekulārie varianti. Attiecībā uz viroīdiem, ISHS iesaka veikt laboratoriskās pārbaudes, izmantojot krustošanu, un atsevišķos gadījumos RT-PKĀR metodi.

Tabula Nr.5: Metodes vīrusveida slimību atklāšanai*** Augļu grumbainība jeb Ben Davis slimība**

Kokaugu pārbaudes (laukā)

Lord Lambourne (5/-/3 a.) (lapu dzeltenplankumainība, lapu plātnes deformācija)

Neattīstītie augļi

Kokaugu pārbaudes (laukā)

Lord Lambourne (5/-/3 a.) (mazi, sarkanbrūni augļi ar tumši zaļiem plankumiem)

† Ābeļu plakanzarainība

Kokaugu pārbaudes (laukā)

Gravensteiner (3/-/3y) (dzinumumu saplacināšanās veidojot dziļas rievas)

Ābolu zaļā krokošanās

Kokaugu pārbaudes (laukā)

Golden Delicious (3/-/3 a.) (neizauguši, nepareizas formas augļi)

*** Ābolu pakavveida sarētojumi**

Kokaugu pārbaudes (laukā)

Golden Delicious (3/-/3 g.) (pakavveida sarētojumi uz mizas zem un ap pumpuriem)

Ābolu raupjā miza (asmizainība)

Kokaugu pārbaudes (laukā)

Belle de Boskoop (tā sauc Latvijā) (3/-/3 a.) (raupji, korķaini plankumi uz augļu mizas, kuri nereti pārplīst)
Golden Delicious[†] (3/-/3 a.) (raupji, korķaini plankumi uz augļu mizas)**Ābeļu gumijotās koksnes slimība**

Kokaugu pārbaudes (laukā)

Lord Lambourne (5/-/3 g.) (stumbra un zaru nenormāla lokanība)

Ābolu rūsveida gredzenplankumainība

Kokaugu pārbaudes (laukā)

Golden Delicious (3/-/3 a.) (brūni apļveida plankumi uz augļiem)

Ābolu rūsveida kārpainība

Kokaugu pārbaudes (laukā)

Golden Delicious (3/-/3 a.) (rūsaskrāsas kārpas ar nekrotiskiem plankumiem uz augļiem)

***Ābolu zvaigžņveida virālā plaisāšana**

Kokaugu pārbaudes (laukā)

Golden Delicious (3/-/3 a.) (augļu mizas plaisāšana, samazināta izmēra augļi)

Bumbieru gredzenveida mozaīka

Skatīt „**Ābeļu hlorotiskās lapu plankumainības trihovīruss**”

Bumbieru mizas nekroze

Skatīt „**Bumbieru mizas plaisāšana**”

Bumbieru mizas plaisāšana

Kokaugu pārbaudes (laukā)

Beurré Hardy (3/-/3 g.) (mizas krevele ar plaisām)

Pyrus A20 (3/-/3 g.) (mizas krevele ar plaisām)

Bumbieru čulveida vēzis

Skatīt “**Bumbieru mizas raupjainība**”

Bumbieru mizas raupjainība

Kokaugu pārbaudes (laukā)

Williams (3/-/3 g.) (raupja miza ar čulām)

Doyenné du Comice (3/-/2 g.) (raupja miza ar čulām)

Pyrus A20 (3/-/3 g.) (raupja miza ar čulām)

Bumbieru cietgrumbainība (Ābeļu virālā stumbra bedrainība?)

Kokaugu pārbaudes (laukā)

Beurré Hardy (3/-/3 a.) (cietas bedrītes uz augļiem)

Durondeau (3/-/3 a.) (cietas bedrītes uz augļiem)

Bumbieru lapu dzīslu dzeltēšana/sarkanplankumainība

Skatīt “**Ābeļu stumbra virālās bedrainības**” foveavīruss

§ Platikarpas mizas plaisāšana

Kokaugu pārbaudes (laukā)

Malus platycarpa (3/-/2 g.) (raupja un zvīņveidīga miza, koki nereti ir punduraini)

Citas pārbaudes līdzīgi kā attiecībā uz ābeļu stumbra virālās bedrainības foveavīrusu

Cidoniju kvēpainā gredzenplankumainība (ābeļu stumbra bedrainība?)

Kokaugu pārbaudes (laukā)

C 7/1 (3/-/2 g.) (smaga lapu epinastija kvēpaini gredzenveida plankumi uz lapām, nereti dzinumu atmiršana)

Cidoniju dzeltenplankumainība (skatīt “Ābeļu gumijotās koksnes slimība”)

Kokaugu pārbaudes (laukā)

C 7/1 (3/-/2 g.) (izplūduši dzeltēti plankumi uz lapām, dzinuma gareniska saplacināšanās)

§ ‘Northern spy’ epinastija

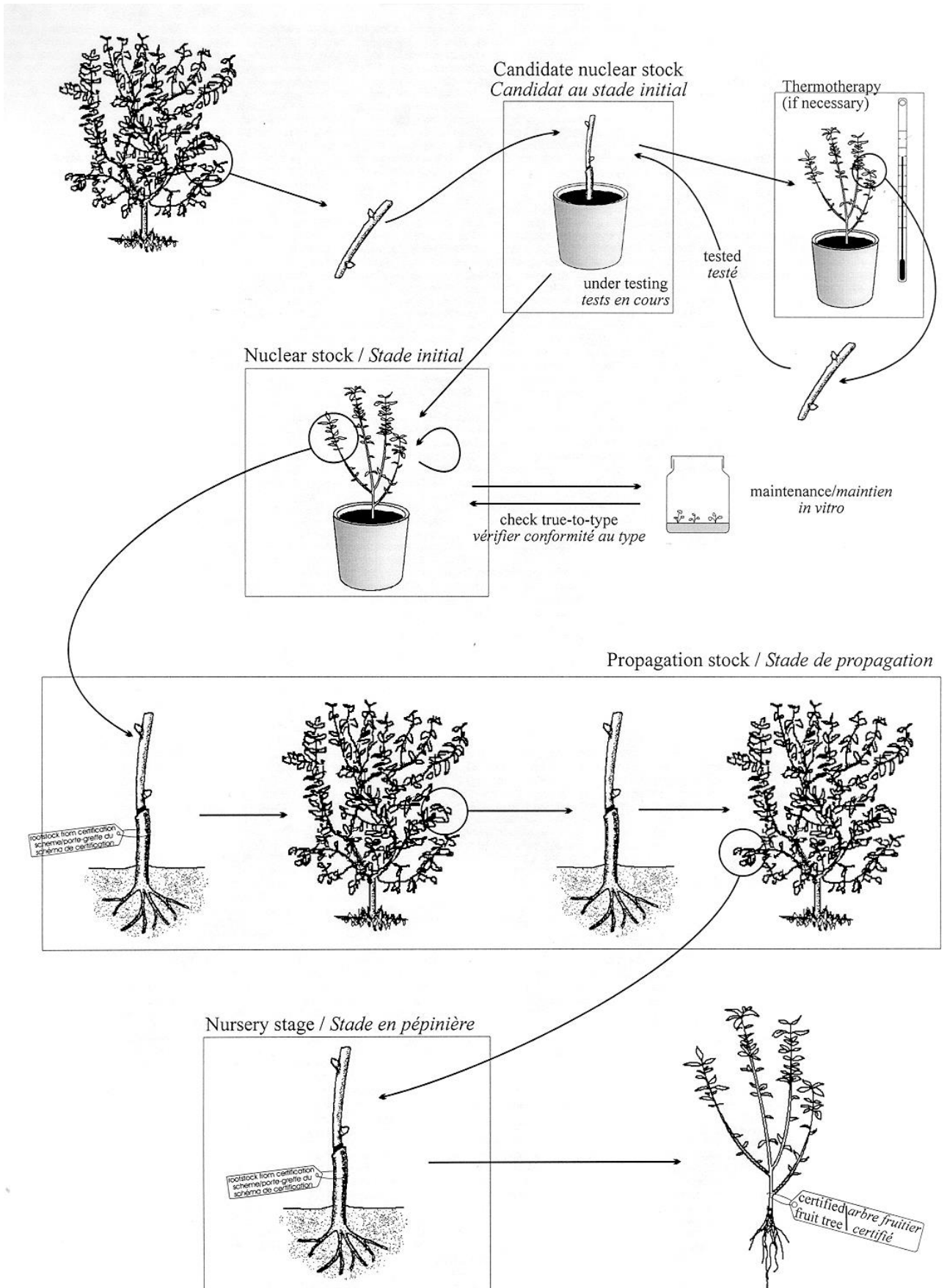
Pārbaudes līdzīgi kā ābeļu stumbra virālās bedrainības foveavīrusam

* Iespējams, izraisa tas pats aģents, kas izsauc ābolu zaļās krokošanās slimību.

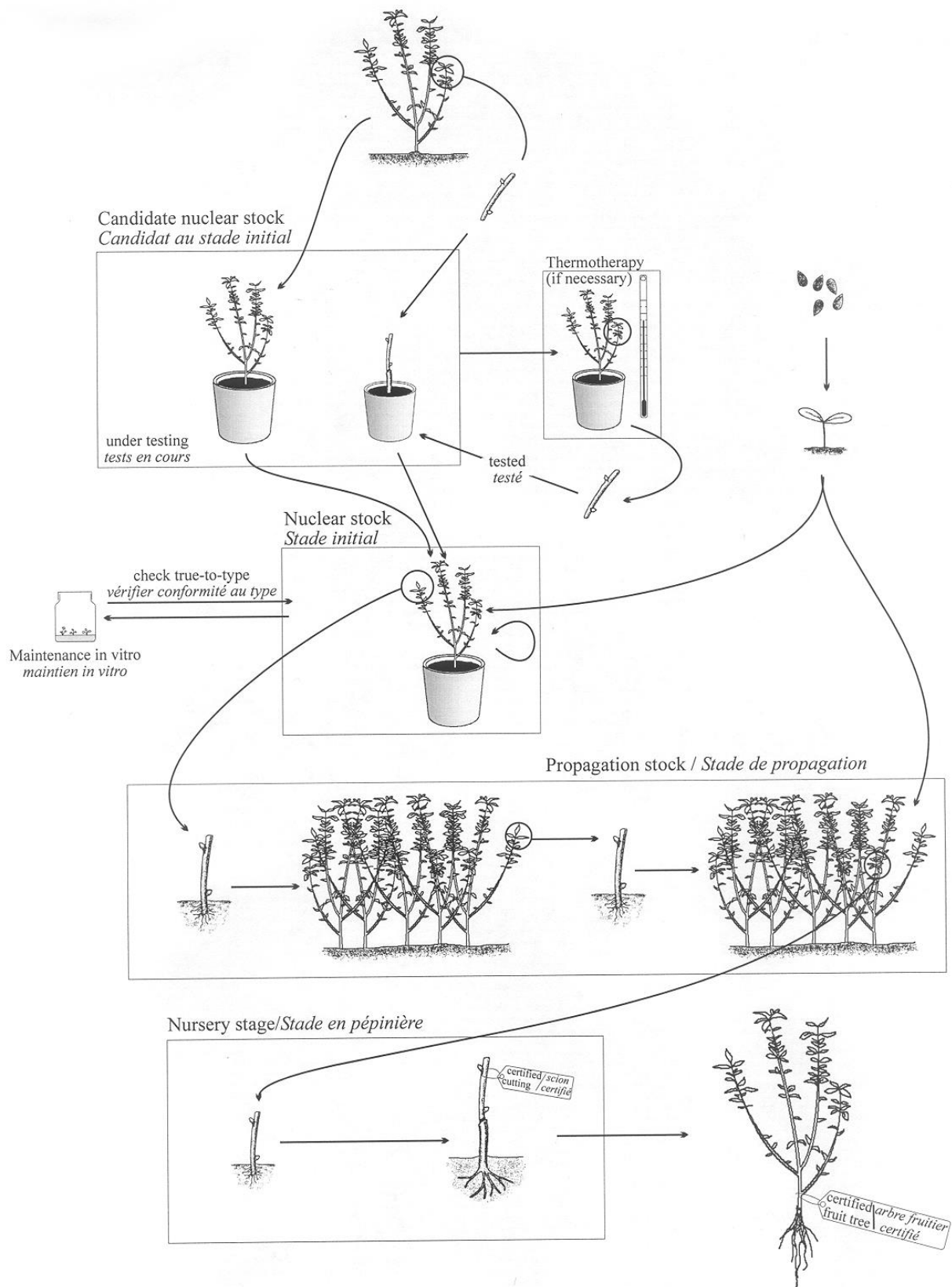
† Iespējams, izraisa tas pats aģents, kas izraisa ābeļu gumijotās koksnes slimību.

- ‡ Pastāv pierādījumi, kas liecina, ka 'Golden Delicious' metode nevar atklāt visas rases.
- § Iespējams, šo slimību izraisa ābeļu stumbra virālās bedrainības foveavīruss.

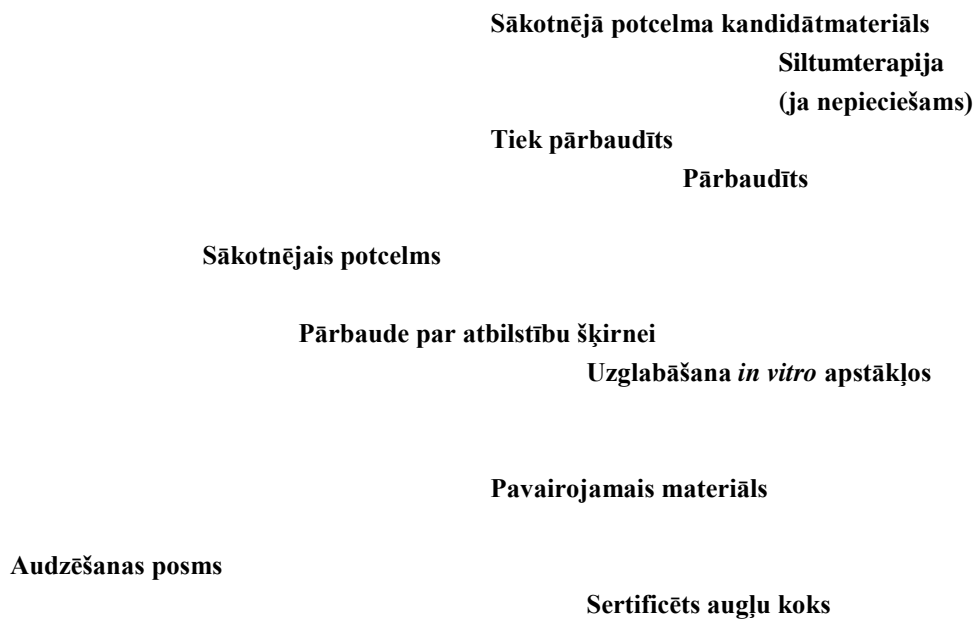
1. attēls: Ābeļu, bumbieru un cidoniju sertificēšanas shēmas posmu attēlojums: atvašu materiāls



2. attēls: Ābeļu, bumbieru un cidoniju sertificēšanas shēmas posmu attēlojums: sakneņi



1. attēls: Ābeļu, bumbieru un cidoniju sertificēšanas shēmas posmu attēlojums: atvašu materiāls



2. attēls: Ābeļu, bumbieru un cidoniju sertificēšanas shēmas posmu attēlojums: sakneņi

