ZBIERKA ZÁKONOV
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

Ročník 2004

Vyhlásené: 14. 2. 2004 Vyhlásená verzia v Zbierke zákonov Slovenskej republiky

Obsah tohto dokumentu má informatívny charakter.

67

NARIADENIE VLÁDY
Slovenskej republiky
z 21. januára 2004
o opatreniach proti šíreniu rakoviny zemiaka a háďatka zemiakového

Vláda Slovenskej republiky podľa § 2 ods. 1 písm. k) zákona č. 19/2002 Z. z., ktorým sa ustanovujú podmienky vydávania aproximačných nariadení vlády Slovenskej republiky v znení zákona č. 207/2002 Z. z. a na vykonanie § 30b zákona Národnej rady Slovenskej republiky č. 285/1995 Z. z. o rastlinolekárskej starostlivosti v znení zákona č. 471/2001 Z. z. (ďalej len „zákon“) nariaďuje:

§ 1

Toto nariadenie ustanovuje opatrenia proti rozširovaniu rakoviny zemiaka [(Synchytrium endobioticum) (SCHILBERSKY) PERCIVAL] a háďatka zemiakového [Globodera rostochiensis (WOLLENWEBER) BEHRENS, Globodera pallida (STONE) BEHRENS].

§ 2

Na účely tohto nariadenia sa rozumie

a) rakovinou zemiaka [Synchytrium endobioticum (SCHILBERSKY) PERCIVAL] (ďalej len „rakovina“) nebezpečná hubovitá choroba zemiakov spôsobujúca čiastočnú alebo úplnú premenu hľúz na hubovité rakovinové nádory zamorujúce pôdu,

b) háďatkom zemiakovým [Globodera rostochiensis (WOLLENWEBER) BEHRENS, Globodera pallida (STONE) BEHRENS] (ďalej len „háďatko“) cystotvorný nebezpečný škodca zemiakov parazitujúci na koreňoch rastlín zemiakov a zamorujúci pôdu,

c) rezistentnou odrodou odroda zemiakov rezistentná voči určitej rase rakoviny, ak reaguje na napadnutie tejto rasy tak, že neexistuje nebezpečenstvo sekundárnej infekcie, a v prípade háďatka, ak sa počas pestovania tejto odrody zistí prirodzený a ročný pokles výskytu populácií tohto patotypu,

d) agresívnym patotypom populácia rakoviny alebo háďatka schopná napádať odrody zemiakov rezistentné voči pôvodným rasám rakoviny 1 (D_1) (pôvodné označenie patotypu 1) alebo patotypom háďatka Ro1 a rozmnožovať sa na nich,

e) hostiteľskými rastlinami rakoviny a háďatka zemiaky (Solanum tuberosum L.), rajčiak jedlý [Lycopersicon lycopersicum (L.) KARSTEN ex FARW.], ľuľok baklažánový - baklažán (Solanum melongena L.), ľuľok čierny (Solanum nigrum L.), ľuľok sladkohorký (Solanum dulcamara L.), ako aj niektoré ďalšie divorastúce rastliny z čeľade ľuľkovité (Solanaceae),

f) výskytom rakoviny a háďatka

1. zistenie aspoň jednej napadnutej rastliny alebo jej časti v poraste alebo v sklade zemiakov,

2. zistenie aspoň jedného zoosporangia pôvodcu rakoviny alebo cysty háďatka vo vzorke zeminy, pričom ich životnosť bola preukázaná biologickým testom alebo zistením živých embryonov a lariev háďatka v cyste,

g) zamoreným pozemkom pozemok označený parcelným číslom (číslami), na ktorom bol zistený a overený výskyt rakoviny alebo háďatka,

h) pravdepodobne zamorenými pozemkami pozemky, ktoré boli obrábané strojmi použitými aj na obrábanie zamorených pozemkov,

i) ohrozeným územím územie, v ktorom rakovina ani háďatko neboli zistené, ale do ktorého vzhľadom na terénne podmienky alebo spôsobom hospodárenia môžu alebo by mohli byť zavlečené,

j) sadivovou zemiakarskou oblasťou územie vymedzené na množenie sadiva zemiakov,

k) veľkým stravovacím strediskom hotel, nemocnica, jedáleň, vojenská posádka a pod., ktoré majú povolenie na zužitkovanie konzumných zemiakov zo zamorených pozemkov,

l) vybraným spracovateľom liehovar, škrobáreň, lupienkareň alebo sušiareň, ktoré majú povolenie na spracovanie zemiakov zo zamorených pozemkov,

m) odpadovou skládkou skládka určená na skladovanie zvyškov zeminy a úlomkov hľúz vznikajúcich pri manipulácii a presune zemiakov zo zamorených pozemkov, aby sa zabránilo rozširovaniu rakoviny a háďatka. Ich výber podlieha schváleniu Ústredným kontrolným a skúšobným ústavom poľnohospodárskym (ďalej len „kontrolný ústav“).

§ 3

(1) Preventívne opatrenia proti zavlečeniu a rozširovaniu rakoviny a háďatka sú uvedené v prílohe č. 1.

(2) Prieskum výskytu rakoviny a háďatka vykonáva kontrolný ústav len u tých výrobcov, ktorí vypestované zemiaky, iné hostiteľské rastliny a rastliny, ktorými sa môže rakovina a háďatko rozširovať, uvádzajú do obehu.[1]) Podrobnosti prieskumu sú uvedené v prílohe č. 2.

(3) Na zisťovanie výskytu rakoviny a háďatka vykonáva kontrolný ústav odbery vzoriek zeminy. Podrobnosti odberu vzoriek sú uvedené v prílohe č. 3.

(4) Sadivové zemiaky možno pestovať len na pozemkoch, na ktorých bol pred výsadbou vykonaný prieskum na rakovinu a háďatko s negatívnym výsledkom, a to odberom vzoriek zeminy z pozemkov podľa prílohy č. 3 a ich rozborom. V prípade, že na danom pozemku bol za uplynulé tri vegetačné obdobia vykonaný prieskum na rakovinu a háďatko s negatívnym výsledkom a na tomto pozemku neboli pestované zemiaky a iné hostiteľské rastliny, kontrolný ústav uzná tento prieskum za dostatočný a povolí pestovanie sadivových zemiakov. Prieskum si zaisťujú pestovatelia na vlastné náklady, pričom odber vzoriek sa musí vykonať za účasti fytoinšpektora. Vzorky sa zasielajú na testovanie s priloženým záznamom o odbere vzorky, zoznamom vzoriek a objednávkou na rozbor do laboratórií poverených kontrolným ústavom. Negatívny výsledok rozboru pôdnych vzoriek, prípadne biologických testov potvrdí výrobcovi kontrolný ústav na podklade výsledkov poverených laboratórií a laboratória kontrolného ústavu so sídlom vo Vígľaši.

§ 4

(1) Metódy zisťovania trvalých zoosporangií pôvodcu rakoviny v pôdnych vzorkách sú uvedené v prílohe č. 4.

(2) Postup zisťovania cýst a lariev háďatka v pôdnych vzorkách je uvedený v prílohe č. 5.

§ 5

(1) Pri zistení výskytu rakoviny alebo háďatka kontrolný ústav nariadi vykonanie a rozsah detailného prieskumu (príloha č. 2 bod II. 3), vymedzí zamorené pozemky a ohrozené územie a podľa osobitného predpisu[2]) navrhne vyhlásenie karantény. Súčasťou návrhu je situačný plánik zamorených pozemkov a ohrozeného územia. Podrobnosti sú uvedené v prílohe č. 6.

(2) Na zamorených pozemkoch je zakázané

a) pestovať zemiaky,

b) pestovať rastliny určené na pestovanie,[3]) skladovať ich alebo inak s nimi manipulovať (napríklad sadivo zemiakov, škôlkarské výpestky, sadzačky repy a pod.).

(3) Ak ide o háďatko, možno pestovať

a) odrody zemiakov rezistentné voči patotypom háďatka, ktoré sa zistili na zamorených pozemkoch,

b) zemiaky okrem sadivových zemiakov tak, že sa tieto zemiaky zberajú predčasne pred dozretím cýst háďatiek, to znamená v čase výskytu prvých bielych cýst háďatka na koreňoch.

(4) Kontrolný ústav v prípadoch uvedených v odseku 3 vykonáva rastlinolekárske kontroly výskytu háďatka s cieľom zamedziť jeho rozširovanie.

(5) V ohrozenom území sa môžu pestovať iba odrody zemiakov rezistentné voči rasám rakoviny zisteným na napadnutom pozemku.

(6) Podrobnosti overovania agresívnych patotypov rakoviny a háďatka sú uvedené v prílohe č. 7.

§ 6

(1) Rastliny určené na pestovanie a zemiaky pochádzajúce zo zamorených pozemkov je zakázané premiestňovať na akékoľvek iné pozemky. Zemiaky zo zamorených pozemkov možno zužitkovať

a) po uvarení alebo sparení na kŕmenie alebo konzumáciu v hospodárstve výrobcu obhospodarujúceho zamorený pozemok,

b) na konzumáciu vo veľkých stravovacích strediskách, ale len vtedy, ak v prípade rakoviny ide o rezistentnú odrodu a v prípade háďatka o pozemok zamorený patotypom Ro1.

(2) Kontrolný ústav môže nariadiť[4]) spôsob zužitkovania a prepravy zemiakov a iného rastlinného materiálu pochádzajúcich zo zamorených pozemkov a opatrenia pri priemyselnom spracovaní zemiakov. Podrobnosti o týchto opatreniach sú uvedené v prílohách č. 8 a 9.

(3) Postup pri asanácii a likvidácii materiálov kontaminovaných rakovinou a háďatkom je uvedený v prílohe č. 10.

(4) Cieľom ničenia rakoviny a háďatka je zníženie a udržanie ich populačnej hustoty pod hranicou škodlivosti a podstatné zníženie pravdepodobnosti ich ďalšieho rozširovania, prípadne ich eradikácia (zničenie) a zrušenie karantény. Kontrolný ústav môže nariadiť[5]) ničenie rakoviny a háďatka na zamorených pozemkoch. Metódy ničenia rakoviny a háďatka sú uvedené v prílohe č. 11.

(5) Podrobnosti zabezpečovania rezistentných odrôd a testovanie rezistencie sú uvedené v prílohe č. 12.

(6) Preskúšavanie zamorenosti pozemkov sa organizuje a plánuje podobne ako prieskum (príloha č. 2 bod II) a vykonáva ho fytoinšpektor najskôr po piatich rokoch na žiadosť výrobcov po uplatnení metód priameho ničenia rakoviny alebo háďatka alebo najskôr za desať rokov od posledného zistenia ich výskytu. Podrobnosti preskúšavania sú uvedené v prílohe č. 13.

(7) Postup pri zmene a zrušení karantény pre rakovinu a háďatko je uvedený v prílohe č. 14.

§ 7

(1) Na územie Slovenskej republiky je zakázané dovážať a na jej území prechovávať pôvodcov rakoviny a háďatka vo všetkých vývinových štádiách, ako aj rastliny a rastlinné produkty s ich výskytom.

(2) Ustanovenie odseku 1 sa nevzťahuje na dovoz, prevoz, prechovávanie alebo akúkoľvek manipuláciu s rakovinou a háďatkom na vedecké, výskumné alebo šľachtiteľské účely, ktoré upravuje osobitný predpis.[6])

§ 8

Zoznam všetkých odrôd zemiakov, u ktorých sa zistilo, že sú rezistentné voči rakovine a háďatku, a ktoré kontrolný ústav schválil na uvádzanie do obehu, oznámi Ministerstvo pôdohospodárstva Slovenskej republiky pred 1. januárom každého roka Komisii Európskych spoločenstiev. V oznámení sa uvedú rasy a patotypy, voči ktorým sú jednotlivé odrody rezistentné.

§ 9

Týmto nariadením sa transponujú právne akty Európskych spoločenstiev uvedené v prílohe č. 15.

§ 10

Toto nariadenie nadobúda účinnosť 15. februára 2004.

v z. Pál Csáky v. r.

Príloha č. 1
k nariadeniu vlády č. 67/2004 Z. z.

PREVENTÍVNE OPATRENIA PROTI ZAVLEČENIU A ROZŠIROVANIU RAKOVINY A HÁĎATKA

Zárodky rakoviny a háďatka sa môžu rozširovať zo zamorených pozemkov na nezamorené pozemky najmä zeminou prilepenou na rastlinách, najmä hľuzách zemiakov (hlavne sadiva), na sadeniciach rastlín, koreňovej zelenine, cibuľovinách a buľvovitých rastlinách, ďalej na poľnohospodárskych strojoch, náradí a obuvi pracovníkov, zeminou, ktorá zostala vo vreciach od zemiakov a pod. Môžu sa prenášať aj hnojom, kompostom, vodnou a veternou eróziou pôdy, pracími vodami, sedimentmi z pracích vôd, zvyškami zemiakov zo škrobární, na väčšie vzdialenosti aj zvieratami a vtákmi.

I. Opatrenia pri dovoze rastlinného tovaru

1. Dovážaný rastlinný materiál podlieha rastlinolekárskej kontrole, ktorú vykonávajú fytoinšpektori kontrolného ústavu, a musí ho sprevádzať rastlinolekárske osvedčenie vyvážajúcej krajiny potvrdzujúce, že zásielka je bez výskytu karanténnych škodlivých organizmov. Karanténne škodlivé organizmy, ktoré nesmie zásielka obsahovať, sa špecifikujú v dodatkovom vyhlásení.

Rastlinolekárska kontrola dovážaných konzumných a sadivových zemiakov sa vykonáva na určených miestach vstupu, kde sa vykonáva kontrola dokumentácie, zdravotného stavu, kvality vrátane výskytu háďatka. V prípade negatívneho výsledku kontroly je zásielka prepustená do obehu. Príjemca po prijatí zásielky ihneď oznámi dovoz zemiakov príslušnému okresnému fytoinšpektorovi. Zásielku príjemca vyloží v karanténnom sklade z dopravného prostriedku oddelene od ostatných zemiakov a musí ju ponechať v pôvodných obaloch (vrecia v paletách pre možnosť prípadnej reklamácie). Fytoinšpektor po nahlásení dovozu zásielku skontroluje a odoberie vzorku na laboratórny rozbor výskytu ďalších škodlivých organizmov.

2. Prímes zeminy a iných nečistôt nesmie prekročiť pri sadivových zemiakoch 1 % ich hmotnosti a pri konzumných a priemyselných zemiakoch 2 % ich hmotnosti.

3. Rastliny s koreňmi, hľuzy a cibule rastlín musia pochádzať od výrobcov, ktorých pozemky sú bez zárodkov rakoviny a háďatka.

II. Odporúčané opatrenia pre výrobcov

1. Spolupracovať pri prieskume výskytu rakoviny a háďatka a kontrolovať vlastné porasty a zber hostiteľských rastlín. Čím skôr sa výskyt zistí, tým menšia je pravdepodobnosť rozšírenia infekcie na ďalšie pozemky a jednoduchšia likvidácia ohniska a zároveň sú menšie škody.

2. Sadiť len uznané sadivo zemiakov pochádzajúce z nezamorených pozemkov.

3. Nepestovať zemiaky na tom istom pozemku v intervaloch kratších ako 4 roky (pri množení zemiakov je to záväzné). Pri pestovaní v intervaloch kratších ako 6 rokov periodicky striedať náchylné odrody s odrodami rezistentnými voči háďatku a rezistentnými alebo len slabo náchylnými na patotyp 1 rakoviny uvedenými v Listine registrovaných odrôd.

4. Nepoužívať na vlastnom pozemku stroje a náradie použité na zamorenom alebo zo zamorenia podozrivom pozemku a organické hnojivá podozrivé zo zamorenia.

5. Zvyšky rastlín, šupky a iné zvyšky zo zemiakov, pri ktorých nie je isté, či sú bez zárodkov rakoviny a háďatka, nedávať na pozemky, do hnoja a kompostov.

6. Pravidelne čistiť a dezinfikovať skladovacie priestory a všetky zariadenia a náradie, ktoré prišlo do styku so zemiakmi. Rastlinné zvyšky, zvyšky zemiakov a zeminu likvidovať tak, aby nemohli byť zdrojom prípadného zamorenia pôdy (príloha č. 10 bod III).

7. Používať sedimenty z pracích vôd spracovateľov na hnojenie a surové zvyšky zemiakov zo škrobární na kŕmenie v súlade s prílohou č. 9. Podobne postupovať pri použití kalov z čistiarní odpadových vôd na hnojenie alebo prípravu kompostov. Tieto kaly sú z hľadiska fytokarantény nezávadné, ak zotrvávajú vo vyhnívacích nádržiach čistiarní aspoň 10 dní pri teplote 35 °C a vyššej.

8. V porastoch sadivových zemiakov pôsobí čiastočne ako prevencia proti rozmnoženiu háďatka pri jeho náhodnom zavlečení a veľmi slabom a neevidovanom výskyte (výskyt pod hranicou zistiteľnosti) ošetrenie nematocídmi (príloha č. 11). Dávky a spôsob použitia sú uvedené v Prehľade prípravkov na ochranu rastlín, mechanizačných prostriedkov na ochranu rastlín, ich výrobcov a držiteľov registrácie a v Metodickej príručke na ochranu rastlín.

Príloha č. 2
k nariadeniu vlády č. 67/2004 Z. z.

PRIESKUM VÝSKYTU RAKOVINY A HÁĎATKA

I. Spôsob vykonania

1. Kontrola porastov zemiakov

Príznaky:

a) Nádory rakoviny veľkosti niekoľkých milimetrov až niekoľkých centimetrov sa tvoria najmä na hľuzách, v očkách, stolonoch a v spodnej časti stonky. Nikdy sa netvoria na koreňoch [drobné biele nádorky na koreňoch spôsobuje spongospórová chrastavitosť (Spongospora subterranea)].

b) Háďatko vytvára na koreňoch 0,2 – 0,9 mm veľké, guľaté, podľa veku biele, žlté alebo hnedé cysty. Pri druhu Globodera pallida chýba žltá fáza vývoja cysty. Silnejšie napadnutie koreňov sa prejavuje zakrpateným vzrastom a žltnutím vňate, vytvára sa malý počet stoniek, väčšie množstvo vlásočnicových korienkov, málo drobných hľúz, prípadne niekedy nie sú žiadne.

Kontrola porastov sa vykonáva v prípade rakoviny od 25. júla do konca zberu a v prípade háďatka od 7. týždňa po výsadbe do začiatku zberu zemiakov. Pri prechode porastom sa hľadajú príznaky napadnutia na vňati a u náhodne vytrhnutých rastlín aj na ich podzemných častiach.

Pri výmere do 0,33 ha sa kontroluje celý porast a na kontrolu podzemných častí sa vytrhnú alebo vykopú na každý 1 ár plochy najmenej 2 rastliny (napr. pri výmere 0,17 ha sa vytrhne 34 rastlín).

Pri výmere nad 0,33 ha sa kontrolujú 0,33 ha plochy zvolené v miestach najpravdepodobnejšieho výskytu rakoviny a háďatka (miesta bývalých záhumienok a hrobieľ, v prípade rakoviny aj vlhšie časti pozemku a pod.) alebo šachovnicovo rozmiestnené po celom pozemku, a to v tomto rozsahu:

Výmera pozemku v ha	Počet 0,33 ha plôch	Počet vytrhnutých rastlín
0,33 - 0,5	2	2 x 20 = 40
0,5- 1,0	3	3 x 20 = 60
1-2	4	4 x 20 = 80
2-5	6	6 x 20 =120
5-10	10	10 x 20 = 200
10-20	15	15 x 20 = 300
20-50	25	25 x 20 = 500
nad 50	40	40 x 20 = 800

2. Kontrola pozberaných zemiakov (týka sa len rakoviny)

Hľadajú sa hľuzy alebo iné časti rastlín s príznakmi rakoviny

a) pri zbere – kontrolujú sa vyorané zemiaky a zvyšky vňate za zberacími strojmi, na kombajnoch, dopravných prostriedkoch a pod.,

b) pri triedení – kontrolujú sa triedené hľuzy vrátane odpadu,

c) v priebehu skladovania – kontroluje sa horná vrstva uložených zemiakov v dočasných alebo trvalých skládkach.

3. Odber a rozbor vzoriek zeminy

Vzorky sa odoberajú z pozemkov. Spôsob odberu sa vykonáva podľa prílohy č. 3, rozbor vzoriek zeminy podľa príloh č. 4 a 5.

Pri pozitívnom výsledku rozboru na rakovinu treba bez ohľadu na zistený počet zoosporangií preveriť ich životnosť laboratórnym biologickým testom (bod 4).

Po ukončení kontroly porastu a odberu vzoriek zeminy treba na každom pozemku očistiť od prichytenej zeminy obuv a použité náradie. Osobitne dôkladné očistenie, prípadne umytie vodou a dezinfekcia (príloha č. 10) sú potrebné v prípade, ak ide o zamorené pozemky.

4. Laboratórny biologický test so vzorkami zeminy

Vykonáva sa

a) pri pozitívnom výsledku rozboru vzorky zeminy na rakovinu,

b) pri zistení ojedinelých cýst háďatka, pri ktorých nebolo možné spoľahlivo určiť druhovú príslušnosť a životnosť,

c) ako samostatná alternatíva rozboru vzoriek zeminy.

Biologický test (príloha č. 13 bod II) sa robí jednorazovo, a to v prípade rakoviny najmenej s 30 (v úspornom teste s 15) hľuzami s inokulačnou dobou aspoň 5 týždňov, a v prípade háďatka s 15 (v úspornom teste s 5) hľuzami s inokulačnou dobou 8 – 10 týždňov. Môže sa použiť i spoločný test na rakovinu a háďatko s 15 hľuzami a inokulačnou dobou 9 – 11 týždňov (príloha č. 13 bod II).

II. Druhy prieskumu a ich organizácia

Prieskum organizuje kontrolný ústav. Rozbory vzoriek zeminy a laboratórne biologické testy na zemiaky vykonáva laboratórium kontrolného ústavu vo Vígľaši.

Kontrolný ústav vypracuje každoročne okresné plány prieskumu pre jednotlivé okresy, ale len pre pozemky, z ktorých sa zemiaky a iné hostiteľské rastliny uvádzajú do obehu. V pláne sa uvedie podľa jednotlivých katastrov druh prieskumu, počet a výmera pozemkov s plánovanou kontrolou porastov, kontrolou pozberaných zemiakov a odberom vzoriek zeminy, počet vzoriek zeminy, časový priebeh prieskumu a personálne a materiálno-technické zabezpečenie.

1. Pozemky určené na množenie sadiva zemiakov a pozemky určené na škôlkarské účely

a) Prieskum na pozemkoch určených na pestovanie sadivových zemiakov je uvedený v § 3 ods. 4.

b) Podobným spôsobom, ako je uvedený v § 3 ods. 4, si výrobcovia množiteľských porastov ovocných, viničových, okrasných a lesných rastlín (škôlky) zabezpečujú odber vzoriek pôdy za účasti fytoinšpektora na účely rozborov na výskyt rakoviny a háďatka. Odber vzoriek sa musí vykonať pred výsadbou rastlín (prípadne výsevom semien) v dostatočnom časovom predstihu, väčšinou na jeseň alebo skoro na jar. Subjekty zaoberajúce sa výrobou pestovateľských substrátov musia zabezpečiť aj odber vzoriek fytoinšpektorom na účel rozboru na výskyt rakoviny a háďatka. Odber vzoriek treba vykonať pred uvádzaním pestovateľských substrátov do obehu. Vzorky sa zasielajú na rozbor do laboratória kontrolného ústavu vo Vígľaši s priloženým záznamom o odbere vzorky, zoznamom vzoriek a objednávkou na rozbor.

c) Kontrolu rozborov poverených laboratórií vykonáva kontrolný ústav. Kontrola sa vykonáva u všetkých podozrivých vzoriek a náhodne zo vzoriek zeminy (jedna vzorka z každého honu).

2. Orientačný prieskum katastrov

Orientačný prieskum vykonávajú fytoinšpektori vo všetkých katastroch sadivovej oblasti a v prípade háďatka aj v oblasti intenzívneho pestovania skorých konzumných zemiakov v intervale 5 rokov, v ostatných oblastiach pestovania zemiakov v intervale 5–10 rokov od uskutočnenia posledného prieskumu.

Orientačný prieskum sa robí na 10 – 50 % pozemkov výrobcov zemiakov a iných hostiteľských rastlín, ktorí ich uvádzajú do obehu, v danom katastri odberom vzoriek zeminy podľa prílohy č. 3 bodu I. 1. Pri veľkom počte pozemkov sa na prieskum vyberú predovšetkým pozemky ležiace v extraviláne a na okraji intravilánu.

Na zamorených pozemkoch a v ohrozenom území sa orientačný prieskum robí len vtedy, ak je v ňom povolené pestovanie zemiakov a iných hostiteľských rastlín [ľuľok baklažánový – baklažán (Solanum melongena), rajčiak jedlý (Lycopersicon lycopersicum)], a netýka sa zamorených pozemkov.

Prieskum na rakovinu sa nerobí v teplejších a suchších oblastiach vybraných okresov s nevhodnými podmienkami na zavlečenie a rozvoj rakoviny.

3. Detailný prieskum

Detailný prieskum vykonávajú fytoinšpektori hneď po zistení výskytu rakoviny alebo háďatka (napr. v orientačnom prieskume) na všetkých zamorených pozemkoch a v ohrozenom území, na ktorých sa pestujú alebo v minulosti pestovali zemiaky a iné hostiteľské rastliny, prípadne aj iné rastliny, ktorými sa môže rakovina a háďatko rozširovať. Robí sa odberom a rozborom vzoriek zeminy.

Na odber a miestnu prepravu pôdnych vzoriek z pozemkov sú výrobcovia povinní zaistiť pomocné pracovné sily.

4. Prieskum výskytu háďatka a rakoviny v skleníkoch

Vykonávajú ho fytoinšpektori kontrolou rastlín zemiakov, rajčín a iných hostiteľských rastlín alebo odberom a rozborom vzoriek zeminy, v ktorej sa tieto rastliny pestovali, prípadne aj iné rastliny, ktorými sa môže rakovina a háďatko rozširovať. Prieskum sa robí v intervale 5 rokov.

5. Prieskum výskytu agresívnych patotypov háďatka

Na pozemkoch zamorených háďatkom, na ktorých je povolené pestovanie zemiakov, vykonávajú fytoinšpektori prieskum agresívnych patotypov kontrolou porastu (bod I. 1) rezistentných odrôd v prípade, že tento prieskum alebo overenie patotypu sa na danom pozemku nevykonal za posledných 5 rokoch. Pri zistení cýst na koreňoch vykoná kontrolný ústav overenie agresívneho patotypu (príloha č. 7 bod III).

Príloha č. 3
k nariadeniu vlády č. 67/2004 Z. z.

ODBER VZORIEK ZEMINY PRI ZISŤOVANÍ VÝSKYTU RAKOVINY A HÁĎATKA

I. Spôsob odberu vzoriek

Pre každú poľnohospodársku pôdu, ktorá je predmetom zisťovania prítomnosti rakoviny a háďatka, je základnou odberovou plošnou jednotkou 0,33 ha.

Rovnomerne po celej ploche pozemku alebo jeho časti sa lopatkou alebo sondovacou tyčou, prípadne s použitím rýľa odoberajú čiastkové vzorky (vpichy) s hmotnosťou cca 100 g. Pri detailnom prieskume háďatka sa odoberie z jednej plošnej jednotky (0,33 ha) 100 vpichov z hĺbky 5 cm, pri detailnom prieskume rakoviny sa odoberie z jednej plošnej jednotky 60 vpichov z hĺbky 20 cm pôdy. Pri spoločnom orientačnom prieskume na rakovinu i háďatko sa z jednej plošnej jednotky odoberie 100 vpichov z hĺbky 20 cm. Čiastkové vzorky sa odoberajú do vedierka. Vo vedierku sa zemina dôkladne premieša a odoberie sa z nej zmesná vzorka s hmotnosťou 1 kg, z ktorej sa urobí analýza na rakovinu a háďatko. Ak sa predpokladá nasledujúci biologický test, odoberie sa zmesná vzorka s hmotnosťou 3 kg. Biologické testy sa vykonávajú v období november až február, z toho dôvodu je vhodné, aby sa vzorky zasielali k tomuto termínu. Vzorky dodané v marci a v neskoršom období sa analyzujú až v najbližšej testovacej sezóne.

a) Pri pozemkoch s výmerou do 33 árov sa vzorky odoberajú z celej plochy alebo zo známych miest predošlého výskytu rakoviny alebo háďatka a na každý ár plochy sa urobí 10 vpichov pri háďatku a 6 vpichov pri rakovine (napr. pri výmere 0,08 ha sa urobí 80 vpichov na háďatko a 48 na rakovinu, pri výmere 0,19 ha 190 vpichov na háďatko a 114 vpichov na rakovinu).

b) Pri pozemkoch s výmerou nad 33 árov sa vzorky odoberajú z 0,33 ha plôch zvolených v mieste najpravdepodobnejšieho výskytu rakoviny a háďatka (známe miesta predošlých výskytov rakoviny alebo háďatka, v prípade rakoviny vlhšie časti pozemku a pod.) alebo šachovnicovo rozmiestnených po celom pozemku, a to v tomto rozsahu:

Výmera pozemku v ha	**Počet 0,33 ha plôch**	**Počet vpichov (čiastkových vzoriek)**			**Počet zmesných vzoriek**
		HZ (háďatko)	**RZ (rakovina)**	**RZ + HZ**	
0,33 - 0,5	2	2 x 100	2 x 60	2 x 100	2
0,5 - 1,0	3	3 x 100	3 x 60	3 x 100	3
1 - 2	4	4 x 100	4 x 60	4 x 100	4
2 - 5	6	6 x 100	6 x 60	6 x 100	6
5 - 10	10	10 x 100	10 x 60	10 x 100	10
10 - 20	15	15 x 100	15 x 60	15 x 100	15
20 - 50	25	25 x 100	25 x 60	25 x 100	25
nad 50	40	40 x 100	40 x 60	40 x 100	40

Počet zmesných vzoriek možno v prípade prieskumu rakoviny znížiť pri pozemkoch s výmerou 1–10 ha až na tretinu, s výmerou nad 10 ha až na pätinu s tým, že sa na pozemku odber vykoná podľa uvedenej tabuľky a v laboratóriu sa urobí zosyp vzoriek.

Odber vzoriek na účel zrušenia karantény pri rakovine je uvedený v prílohe č. 14.

c) Ak možno pri preskúšavaní zamorených pozemkov presne určiť (podľa evidencie) miesta predošlého výskytu rakoviny alebo háďatka, odoberú sa z nich bez ohľadu na výmeru navyše samostatné zmesné vzorky.

Na pozemkoch, kde sa odoberá viac ako jedna zmesná vzorka, sa nakreslí plánik odberu vzoriek. Na ňom sa miesta odberu označia číslami totožnými s číslami odobratých zmesných vzoriek a celý pozemok sa označí číslom alebo názvom honu, parcelným číslom (parcelnými číslami) a výmerou. Vyznačia sa aj orientačné vzdialenosti miest odberu zmesných vzoriek od okrajov pozemku, prípadne od seba navzájom. Do plánika sa zakreslia a označia základné orientačné body (miestne komunikácie a poľné cesty, rybníky, zastavaná časť katastra a pod.) a svetové strany. Každý plánik sa označí týmito údajmi: okres, obec, kataster, rok a účel odberu vzoriek (OP/DP RZ,OP/DP HZ alebo OP/DP RZ + HZ alebo ohniská RZ/HZ).

Vzorky sa odoberajú do pevných papierových vreciek, za vlhka do igelitových, z ktorých sa do dvoch dní presypú do papierových vreciek alebo do vhodných nádob a nechajú sa pri izbovej teplote vysušiť.

Odber vzoriek možno robiť v priebehu celého roka okrem obdobia, keď je pôda zamrznutá alebo príliš vlhká.

Pred prechodom z jedného pozemku na druhý treba očistiť vedierko, lopatku, sondovaciu tyč, rýľ i obuv od prichytenej zeminy. Osobitne dôkladné očistenie, prípadne umytie vodou a dezinfekcia (príloha č. 10) sú potrebné vtedy, ak ide o zamorený pozemok.

II. Označenie vzoriek a ich zaslanie na rozbor

Po vysušení sa vzorky odošlú na rozbor. Na prepravu je nevyhnutné vložiť vzorky v papierových vreckách ešte do igelitových vreciek, aby sa zabránilo ich rozsypávaniu.

Každá vzorka musí byť na vonkajšej strane obalu označená týmito údajmi: okres, obec, kataster, číslo vzorky, rok a účel odberu vzoriek (OP/DP RZ,OP/DP HZ alebo OP/DP RZ + HZ alebo ohniská RZ/HZ). Vzorky odoberané z miest predošlého výskytu rakoviny alebo háďatka sa navyše označia poznámkou – „odber z ohniska rakoviny – háďatka v roku .....“.

Záznam o odbere vzorky, zoznam vzoriek a plániky odberu vzoriek sa odošlú do laboratória kontrolného ústavu vo Vígľaši okrem vzoriek z prieskumu pozemkov určených na množenie sadiva zemiakov odoberaných výrobcami v spolupráci s okresným fytoinšpektorom, ktoré sa odošlú do vybraných oblastných laboratórií.

III. Uchovávanie a likvidácia vzoriek zeminy

Vzorky sa uchovávajú počas 6 mesiacov od vykonania rozboru (v prípade, že sa nepoužijú na laboratórny biologický test) alebo od ukončenia laboratórneho biologického testu, a to v mieste vykonania rozboru. V odôvodnených prípadoch možno vzorky uchovávať podľa potreby aj dlhšie. Vzorky s negatívnym výsledkom rozboru možno likvidovať aj skôr.

Vzorky určené na likvidáciu sa odvezú na odpadovú skládku, odkiaľ nehrozí nebezpečenstvo prípadného rozšírenia zárodkov rakoviny a háďatka.

Príloha č. 4
k nariadeniu vlády č. 67/2004 Z. z.

ZISŤOVANIE TRVALÝCH ZOOSPORANGIÍ PÔVODCU RAKOVINY V PÔDNYCH VZORKÁCH

A. METÓDA PODĽA POTOČKA

I. Princíp metódy

Prelievaním vodnej suspenzie z 10 g navážky zmesnej vzorky zeminy sitom s veľkosťou ôk 0,09 mm, dekantáciami po rôznych dobách sedimentácie vo vodnom stĺpci s výškou 10 cm a rozpustením minerálneho podielu zeminy v 25 % kyseline fluorovodíkovej sa pripraví na mikroskopickú analýzu 5 – 10 ml suspenzie obsahujúcej priemerne 1,5 % (0,6 – 2,5 %) pôvodného hmotnostného množstva pôdnych častíc a 87 % (85 – 90 %) pôvodného počtu trvalých zoosporangií pôvodcu rakoviny.

II. Pracovný postup

1. Suchá zmesná vzorka pôdy sa vysype do misky na úpravu vzorky, hrudky sa ľahko rozdrvia a premieša sa. Z rôznych miest vzorky sa odoberie 20 čajových lyžičiek zeminy a preoseje sa sitom s veľkosťou ôk 2 mm. Zemina, ktorá zostane na site, sa vráti do pôvodnej vzorky. Sito sa po použití dôkladne opláchne a rýchle vysuší.

2. Z najmenej 20 miest preosiatej zeminy pod 2 mm sa naberie a na technických váhach naváži 10 g vzorky na analýzu.

3. Navážka sa nasype do 1 l až 2 l Erlenmayerovej banky asi s 0,5 l vody a suspenzia sa počas 20–30 minút niekoľkokrát zamieša, aby sa jednotlivé pôdne častice uvoľnili.

4. Suspenzia sa kvantitatívne preleje vopred navlhčeným kruhovým sitom s priemerom 20 cm a s veľkosťou ôk 0,09 mm do 5 l vedra z umelej hmoty s vyznačenými ryskami na vnútornej strane vo výške 1 a 11 cm od dna. Obsah na site sa pritom preplachuje silným prúdom vody pomocou sprchového nadstavca, až kým hladina suspenzie vo vedre nevystúpi k hornej ryske (11 cm od dna). Sito sa po použití dôkladne prepláchne a rýchle vysuší.

5. Po 7 minútach usadzovania sa suspenzia odsaje gumovou hadičkou (priemer otvoru 6 mm) až k spodnej ryske vedra (1 cm od dna). Koniec hadičky sa pritom posúva stredom vedra (nie pri stene) s klesajúcou hladinou ku dnu. Výškový rozdiel medzi dnom vedra a dnom nádoby, do ktorej sa odsáva, musí byť 70 – 90 cm. Odsávanie možno urobiť aj pomocou špeciálneho odsávacieho nadstavca (bod III). Odsávací nadstavec sa potom vyberie a opláchne do vedra kvantitatívne malým množstvom vody z laboratórnej striekačky.

6. Zostávajúca suspenzia z dna vedra sa preleje kvantitatívne (pomocou laboratórnej striekačky) do priehľadného valca z umelej hmoty (výška 16 cm, priemer 7,2 cm) s vyznačenými ryskami vo výške 1, 3, 8 a 11 cm od dna.

7. Do valca so suspenziou sa prudko prileje voda až k hornej ryske (11 cm od dna). Po 25 sekundách pokoja sa preleje horná časť suspenzie odsatím gumovou hadičkou k spodnej ryske (1 cm od dna) do vedra. Táto dekantácia sa uskutoční vždy po priliatí vody a po 25 sekundách sedimentácie spolu 4-krát pri dodržaní výškového rozdielu medzi dnami nádob 70 – 90 cm. Hadička sa potom prepláchne do vedra a sediment sa z valca vypláchne do výlevky.

8. K obsahu vedra sa prudko prileje voda až k hornej ryske (11 cm od dna) a ďalej sa postupuje podľa bodov 5 a 6 s tým, že pri pracovnej operácii podľa bodu 6 sa starostlivo spláchnu na dno vedra a prevedú do valca i častice prichytené na stenách.

9.

a) Po 7 minútach pokoja sa odsaje hadičkou vrchná časť suspenzie vo valci až k ryske 3 cm od dna. K suspenzii sa potom prileje 38 – 40 % kyselina fluorovodíková k ryske 8 cm od dna, valec sa prikryje vrchnáčikom z umelej hmoty a vloží sa do digestora.

b) Odsatie hadičkou možno nahradiť týmto postupom:

Najmenej po 10 minútach pokoja sa suspenzia nad sedimentom odsaje vodnou vývevou pomocou odsávacieho nadstavca na priehľadný valec. Výveva sa pustí na plný výkon a nadstavec sa pomaly položí na dno a pevne pritlačí. Odsávanie sa ukončí vo chvíli, keď už nie je vývevou nasávaná žiadna suspenzia. Pri starostlivom uskutočnení tejto operácie má zvyšok vo valci objem 17,5 ± 1 ml. Nadstavec sa vyberie z valca a pred ďalším použitím sa dôkladne opláchne v nádobe s vodou. K zostatkovej suspenzii vo valci sa pridá dávkovacím téglikom 29 ± 1 ml 40 % kyseliny fluorovodíkovej. Suspenzia sa dôkladne premieša (potrasením nádobou), zakryje vrchnákom z umelej hmoty a vloží do digestora.

10. Suspenzia sa nechá rozpúšťať 42 – 48 hodín. Počas rozpúšťania sa obsah valca aspoň 10-krát premieša (potrasením alebo lyžičkou z umelej hmoty). Od posledného miešania do nasledujúcej operácie musí suspenzia stáť najmenej 4 hodiny v pokoji. Dobu rozpúšťania možno skrátiť až na 7 hodín neprerušeným miešaním pomocou laboratórneho magnetického miešania pri rýchlosti miešania 250 – 300 obrátok za minútu. Ako miešadlo sa použije kovový valček s rozmermi 35 x 5 mm zatavený v plastovom obale.

11. Po ukončení rozpúšťania a nasledujúcom štvorhodinovom státí v pokoji sa roztok nad usadeninou opatrne zleje naklonením valca tak, aby sa s ním nevyliala časť usadeniny, alebo sa odsaje kvapalina nad sedimentom vodnou vývevou pomocou odsávacieho nadstavca, ktorý sa na dno valca nepritláča, len sa ľahko na dne pridrží. Keď výveva nenasáva už žiadnu kvapalinu, nadstavec sa z valca vyberie a opláchne striekačkou do valca so suspenziou.

12. Obsah valca sa preleje kvantitatívne do vedra, prileje sa voda k hornej ryske (11 cm od dna) a po 7 minútach pokoja sa suspenzia odsaje gumovou hadičkou k spodnej ryske (1 cm od dna).

13. Zostávajúca suspenzia sa prevedie kvantitatívne (spolu so starostlivým spláchnutím stien) z vedra do priesvitného valca, doplní sa vo valci vodou k ryske 11 cm od dna a nechá sa 10 minút v pokoji.

14. Vrchná časť suspenzie sa odsaje hadičkou k spodnej ryske (1 cm od dna) alebo sa použije na odsatie vodná výveva (podľa bodu 9b). Zostatok suspenzie z dna valca sa potom kvantitatívne prevedie (spolu s opláchnutím stien laboratórnou striekačkou) do skleného odmerného valca s obsahom 50 ml a nechá sa najmenej 15 minút sedimentovať.

15. Naklonením odmerného valca sa kvapalina nad sedimentom opatrne zleje až k ryske označenej 4 –10 ml (podľa množstva sedimentu) alebo sa kvapalina odsaje vodnou vývevou pomocou nadstavca na odsávanie z odmerného valca. S nadstavcom sa zaobchádza tak, že jednou rukou sa pridŕža odmerný valec a druhou sa posúva ústie nadstavca s hladinou až k ryske označujúcej 5 ml.

16. Suspenzia zo skleneného valca sa kvantitatívne prevedie do malej dobre uzatvárateľnej fľaštičky (25 – 50 ml liekovky), ktorá sa riadne označí číslom a pôvodom vzorky.

17. Pomocou malej pipety (na 1 – 2 ml) sa suspenzia dôkladne prebuble a nasaje sa malé množstvo, z ktorého sa 1 kvapka rýchlo nanesie na podložné sklíčko. Prikryje sa krycím sklíčkom (20 x 20 mm) a prezerá sa pod binokulárnym mikroskopom pri 62 – 105-násobnom zväčšení (napr. objektív 10 a okulár 5- alebo 7-krát pri koeficiente hlavice 1,25 alebo 1,5). Jednou rukou sa pritom

posúva preparát zľava doprava alebo sprava doľava, druhou rukou sa zaostruje. Keď sa prejde z jedného okraja na druhý okraj krycieho sklíčka (t. j. prezrie sa jeden pás šírky zorného poľa), posunie sa preparát o jednu šírku zorného poľa hore alebo dolu a prezerá sa ďalší pás opačným smerom. Podozrivé spóry alebo iné objekty sa determinujú pri 125 – 600-násobnom zväčšení (napr. objektív 20 alebo 40, okulár 5-, 7- alebo 10-krát). Počet zoosporangií a počet prezretých pásov sa zapisuje. V prezeraní pásov z jednej kvapky sa pokračuje tak dlho, kým sa neprezrie celá plocha krycieho sklíčka (od horného okraja k spodnému okraju) alebo kým nezačne voda pod krycím sklíčkom vysychať. Potom sa suspenzia znovu prebuble a nanesie sa ďalšia kvapka (t.j. druhý preparát).

Ak je suspenzia príliš hustá (častice sa prekrývajú), pridá sa do fľaštičky voda a kvapky sa odoberajú z väčšieho množstva suspenzie (až 10 ml), ak je príliš riedka (menej než 100 častíc približnej veľkosti spór v zornom poli objektívu 10), odoberie sa pipetou časť vody nad usadeninou (po najmenej 15-minútovom pokoji) a kvapky sa odoberajú z menšieho množstva suspenzie (až 3 ml).

18. Opísaným spôsobom sa prezrie postupne toľko preparátov (kvapiek), aby sa celková plocha prezretých pásov rovnala celkovej ploche 4 krycích sklíčok. Počet pásov na jedno krycie sklíčko sa zistí podľa toho, koľkokrát sa musí posunúť šírka zorného poľa mikroskopu z jedného konca na druhý koniec krycieho sklíčka. Pri objektíve 10, okulári 5-krát, koeficiente binokulárnej hlavice 1,25 a veľkosti krycieho sklíčka 20 x 20 mm je to 14,5 pásu, takže celkom treba prezrieť 4 x 14,5, t. j. 58 pásov.

Ak sa nenájde žiadne zoosporangium Synchytrium endobioticum, pokračuje sa v prezeraní ďalších preparátov a pásov, kým celková prezretá plocha sa nerovná ploche 6 krycích sklíčok (pri objektíve 10, okulári 5-krát, koeficiente binokulárnej hlavice 1,25 a veľkosti krycieho sklíčka 20 x 20 mm je to 87 pásov).

19. Výsledky analýzy sa zaznamenávajú do tabuľky podľa tohto vzoru:

Záznam o analýze pôdnych vzoriek na výskyt trvalých zoosporangií Synchytrium endobioticum

Poradové číslo	Číslo vzorky	Pôvod vzorky (kataster)	Príprava suspenzie		Mikroskopovanie		Množstvo suspenzie v ml (s)	Počet prezretých krycích sklíčok (n)	Počet plných spór		Celkový počet	
			dátum	uskutočnil	dátum	uskutočnil			celkom (z)	v 1 g zeminy (N)	plných spór iných druhov	prázdnych spór

Zaznamenávajú sa osobitne plné, t. j. nevyklíčené trvalé zoosporangiá Synchytrium endobioticum, vyklíčené zoosporangiá (javia sa ako prázdne, ich obsah je svetložltý, mávajú aj porušenú blanu) a podobné spóry iných druhov. Determinácia zoosporangií je opísaná v bode IV.

20. Intenzita zamorenia zeminy sa vypočíta podľa vzorca:

$$N = \frac{k.s.z}{n}, \text{ kde}$$

N – počet zoosporangií Synchytrium endobioticum v 1 g zeminy,

s – množstvo suspenzie v ml,

z – celkový počet zistených zoosporangií Synchytrium endobioticum,

n- počet prezretých krycích sklíčok (t. j. koľko krycích sklíčok vypĺňa celková plocha prezretých pásov), n = 4 alebo 6,

k – koeficient vyplývajúci z 87 % výťažnosti spór,

$$k = \frac{1,1.p}{10}, \text{ kde}$$

p – počet kvapiek pipety 1 ml suspenzie.

Príklad: Množstvo suspenzie vo fľaštičke je 6 ml, celkom zistených 8 spór Synchytrium endobioticum v 58 pásoch, t. j. na ploche 4 krycích sklíčok.

$$N = \frac{2,2.6.8}{4} = 26,4$$

k = 2,2 platí pre pipetu, ktorou sa dá naniesť 20 kvapiek z 1 ml suspenzie.

21. Po skončení rozboru sa do suspenzie vo fľaštičke nesmie pridávať voda, t. j. musí byť rovnako hustá ako pri rozbore.

22. Po skončení všetkých rozborov od jedného výrobcu alebo z katastra sa na pôdnych vzorkách s prítomnosťou zoosporangií rakoviny založia biologické testy.

23. Suspenzie vo fľaštičkách sa uchovávajú 1 rok od uskutočnenia kontrolnej determinácie.

III. Manipulácia s odsávacím nadstavcom na vedro a dávkovacím téglikom

Odsávací nadstavec sa chytí obidvoma rukami: jednou rukou za držiak, ktorý sa nasadí na okraj vedra v mieste, kde bolo pripevnené ucho, druhou rukou za hadicu nad miestom, kde je do nej zasunutá sklenená trubička odsávacieho disku. Zároveň s nasadením držiaka sa uloží disk na dno vedra. Disk sa ukladá plynulým pohybom, aby nedochádzalo k víreniu častíc. Na voľný koniec

hadice, ktorý je uložený vo výlevke, sa nasadí stlačený balónik a jeho uvoľnením sa nasaje do hadice voda. Balónik sa vyberie a vytlačí sa z neho nasatá voda. U správne nasadeného nadstavca musí hliníkový disk ležať celou plochou (na 3 podporných bodoch) asi v strede dna vedra. Ak tomu tak nie je, treba polohu disku upraviť posunutím alebo natočením gumovej hadice v držiaku. Úprava sa robí v prázdnom vedre.

Dávkovací téglik sa pripevní na fľašu s kyselinou fluorovodíkovou namiesto zátky. Stlačením fľaše sa vytlačí kyselina do téglika. Po uvoľnení fľaše v tégliku zostane nastavený objem (29 ml) a zostatok sa naleje späť do fľaše. Pri dávkovaní musí fľaša stáť na rovnej podložke. Obsah téglika sa vyleje k vzorke do priesvitného valca a fľaša sa opäť postaví na podložku. Dávkovanie sa môže zopakovať. Pri vylievaní téglika sa fľaša drží tak, aby sa nestlačila.

IV. Determinácia trvalých zoosporangií Synchytrium endobioticum

Determinácia zistených spór sa robí podľa opisu trvalých spór vybraných druhov Synchytrium, Protomyces a Sclerospora. Pritom stačí rozlišovať spóry Synchytrium endobioticum od podobných spór iných druhov húb, ktoré sa môžu v pôde vyskytovať. Iné spóry netreba druhovo determinovať.

Pred začatím práce treba urobiť analýzu vzorky zeminy silne zamorenej rakovinou (podľa bodu II), naučiť sa poznávať trvalé zoosporangiá Synchytrium endobioticum v tejto vzorke a vzorovú suspenziu mať k dispozícii na porovnanie s prezeraným preparátom.

Determináciu v niektorých prípadoch uľahčí zmena polohy spóry v suspenzii, ktorá sa dosiahne ľahkým tlakom vhodného predmetu (napr. lancety) na krycie sklíčko, alebo uvoľnenie vnútorného obsahu spóry dosiahnuté silnejším tlakom na krycie sklíčko v mieste spóry.

Opis trvalých spór vybraných druhov Synchytrium, Protomyces a Sclerospora

	Druh	**Tvar**	**Veľkosť v µm**	**Vonkajšia vrstva steny**	**Vnútorný obsah**
1.	Synchytrium endobioticum	zväčša guľovitý, mierne predĺžený, hranatý alebo oválny	30-80 35 - 45 x 50 - 80	hladká (1,8-2,5 µm silná) alebo zbrázdená či ryhovaná a nepravidelne silná, so svetlo až tmavými vohnedými zvyškami protoplazmy alebo bez nich, okrovožltá, zlatohnedá až hnedá	jemný až hrubo zrnitý, svetlo až tmavosivý, pri vyklíčených (prázdnych) svetložltý
2.	Synchytrium taraxaci	guľovitý až vajcovitý	30-80	hladká, silná, svetloškoricovo-hnedá až tmavohnedá	zlatooranžový

3.	Synchytrium aureum	guľovitý až elipsovitý	90 - 200 70 - 90 x 95 - 200	hladká, silná, svetlo až tmavo- hnedá či červenohnedá, obale- ná silnou hnedou vrstvou zvyš- kov protoplazmy	zlatožltý, červenooranžový až červenkastý
4.	Synchytrium stellariae	guľovitý až vajcovitý	50 - 160	hladká, silná, oranžovočerve- ná, hnedá či červenohnedá, niekedy s tenkou vrstvou tma- vohnedých zvyškov protoplaz- my	hrubo zrnitý, citrónovožltý, žltohnedý až červenkastohnedý
5.	Synchytrium laetum	guľovitý či vajcovitý až podlhovastý	50-80 50- 110 x 150-200	mierne vráskavá či mierne bra- davičnatá, 2,8-3,6 μm silná, svetlo až orechovohnedá, oby- čajne s hyalinným či svetlohne- dým zvyškom protoplazmy	oranžovožltý
6.	Synchytrium anemones	guľovitý až elipsovitý	60 - 170	hladká alebo mierne bradavič- natá a priečne ryhovaná, zlato- hnedá alebo gaštanovohnedá, so silnou vrstvou hnedých zvyškov protoplazmy	hyalinný

7.	Synchytrium niessli	zväčša guľovitý, zriedka vaj- covitý	50 - 160	pruhovaná s drobnými brada- vičkami na povrchu, jantárovo či škoricovohnedá, 4-5 µm silná, bez zvyškov alebo s ried- kymi zvyškami protoplazmy	hyalinný
8.	Synchytrium succissae	guľovitý až elipsovitý	50-80	hladká, tmavohnedá, 4-8 µm silná	jemne zrnitý, svetlohnedý až červený
9.	Synchytrium fulgens	guľovitý až vajcovitý	42-85 33 - 50 x 60 - 90	hladká, jantárovo až tmavo- hnedá, 3,6-4,2 µm silná, nie- kedy so silnými červenohnedý- mi zvyškami protoplazmy	hyalinný
10.	Synchytrium pilificum	guľovitý až vajcovitý	75 - 240 80 - 130 x 126 - 240	hladká, svetlohnedá, 3,8 - 4,6 µm silná, obyčajne s červeno- hnedým zvyškom protoplazmy	svetložltý až zlatožltý
11.	Synchytrium globosum	guľovitý až elipsovitý	60 - 190	hladká, silná, svetlohnedá ale- bo hnedá s malinovým odtie- ňom, s hnedými až červeno- hnedými zvyškami protoplazmy	hyalinný alebo sivobiely

12.	Synchytrium anomalum	prevažne predĺžený, vajcovitý, fazuľovitý, zriedka guľovitý	40- 120 x 74-210	hladká, žltohnedá, 3-3,8 μm silná, niekedy obalená riedkym žltohnedým zvyškom protoplazmy	hyalinný alebo sivý
13.	Synchytrium myosotidis	guľovitý až elipsovitý	70 - 130 56 - 150 x 80 - 160	hladká, 4-6 μm silná, svetlohnedá, gaštanovohnedá až červenohnedá s tmavohnedými či červenohnedými zvyškami protoplazmy	oranžový (zlato červený)
14.	Protomyces macrosporus	guľovitý až elipsovitý	35-80	hladká, vždy bez zvyškov protoplazmy hostiteľskej bunky, bezfarebná alebo žltkavá, veľmi silná	jemne zrnitý, svet lohnedý
15.	Sclerospora macrospora	nepravidelne guľovitý až elipsovitý	35-72	veľmi silná (okolo 6 μm), tmavohnedá, vždy bez zvyškov protoplazmy	tmavohnedosivý

Pri rozboroch pôdnych vzoriek na výskyt trvalých zoosporangií Synchytrium endobioticum je najpravdepodobnejší zistený druh č. 1 – 4 a 15.

V. Upozornenie

1. Podmienkou vykonávania analýz pôdnych vzoriek na prítomnosť spór pôvodcu rakoviny je dôkladné praktické zaškolenie pracovníka.

2. S analyzovaním vzoriek a so suspenziami treba zaobchádzať ako s karanténnym materiálom, t. j. tak, aby nedošlo k roztrúseniu a zamoreniu poľnohospodárskej pôdy.

3. Kyselina fluorovodíková je zdraviu škodlivá žieravina. Pri práci s ňou treba dodržiavať opatrenia bezpečnosti práce a ochrany zdravia uvedené na etikete predávaného výrobku.

B. METÓDA PODĽA JELEMA

Pracovný postup

Vysušená vzorka zeminy sa rozdrví a preoseje cez sito s veľkosťou ôk 0,75 mm. Zo získaného preosevu sa odváži 2 podvzorky po 100 g. Ďalší postup predstavuje prípravu jednej podvzorky:

1. Odvážená 100 g vzorka zeminy sa zaleje 900 ml tečúcej vody a nechá sa 24 hodín stáť. Častice pôdy musia byť rozbité.

2. Pustí sa elektromagnetická sieťová miešačka so sústavou sít s veľkosťou ôk 500 µm, 250 µm, 125 µm, 71 µm, 40 µm a 25 µm, sitá sa navlhčia vodou a suspenzia sa za mokra preleje cez sitá.

3. Amplitúda trepania sa nastaví na 1,5 mm a čas preosievania na 15 – 20 minút. Preosieva sa tak dlho, kým voda z hadice neodteká čistá.

4. Frakcie zadržané na sitách s veľkosťou ôk 40 µm a 25 µm sa zmyjú vodou pomocou laboratórnej striekačky do odmerky (množstvo vody musí byť také, aby bol celý preosev prenesený), pridá sa kaolínový prášok a dôkladne sa premieša.

5. Získaný roztok sa prenesie do 50 ml centrifugačných (umelohmotných) skúmaviek a centrifuguje sa 15 minút pri 3000 obrátkach za minútu.

6. Po odstredení sa supernatant odsaje od sedimentu. Zárodok sa nachádza v sedimente na dne skúmavky.

7. Do získaného sedimentu sa pridá nasýtený roztok $CaCl_2$ (hustoty 1,5 $g.dm^{-3}$), uzavrie sa, dôkladne sa rozmieša a opäť centrifuguje 5 minút pri 3000 obrátkach za minútu.

8. Po odstredení sa supernatant oddelí od sedimentu. Zárodok rakoviny je v nasýtenom roztoku $CaCl_2$, v supernatante.

9. Na špeciálne podložné sklíčko s dvomi otvormi s objemom 2 ml sa nanáša pipetou získaný supernatant po 2 ml, prikryje sa krycím sklíčkom s veľkosťou 24 x 40 mm a prezerá sa pod mikroskopom pri 60-násobnom zväčšení. Takto sa prezrie všetok získaný supernatant.

Veľkosť zárodku je 25 – 80 µm.

C. METÓDA PODĽA PRATTA

Pracovný postup

Vysušená vzorka zeminy sa rozdrví a preoseje cez sito s veľkosťou ôk 0,75 mm. Zo získaného preosevu sa odváži 2 podvzorky po 100 g. Ďalší postup predstavuje prípravu jednej podvzorky:

1. Odvážená 100 g vzorka zeminy sa zaleje 900 ml tečúcej vody a nechá stáť 24 hodín. Častice pôdy musia byť rozbité.

2. Pustí sa elektromagnetická sieťová miešačka so sústavou sít s veľkosťou ôk 500 µm, 250 µm, 125 µm, 71 µm, 40 µm a 25 µm, sitá sa navlhčia vodou a suspenzia sa za mokra preleje cez sitá.

3. Amplitúda trepania sa nastaví na 1,5 mm a čas preosievania na čas 15 – 20 minút. Preosieva sa tak dlho, kým voda z hadice neodteká čistá.

4. Frakcie zadržané na sitách s veľkosťou ôk 40 µm a 25 µm sa zmyjú vodou pomocou laboratórnej striekačky na dva filtračné papiere nad výlevkou (alebo nejakou nádobou).

5. Filtračné papiere sa vysušia pri teplote nižšej ako 40 °C.

6. Zemina z filtračného papiera sa zosype a rozdelí na 4 rovnaké časti, vsype sa do štyroch 50 ml centrifugačných skúmaviek a každá sa zaleje 15 ml chloroformu alebo nasýteným roztokom $CaCl_2$ a centrifuguje sa 15 minút pri 3000 obrátkach za minútu.

7. Supernatant nad usadeninou sa zleje na filtračný papier (2 podvzorky na jeden filtračný papier), usadenina sa zaleje opäť 15 ml chloroformu (alebo $CaCl_2$), zopakuje sa odstreďovanie na centrifúge a znovu sa filtruje cez ten istý filtračný papier. Takto získaný materiál sa použije na mikroskopovanie (2 filtračné papiere z každých 100 g podvzorky).

8. Materiál z dvoch filtračných papierov (1 podvzorka) sa zmyje malým množstvom vody (pipetou) napríklad na hodinové sklíčko. Zo získaného vodného roztoku sa urobia mikroskopické preparáty.

9. Na špeciálne podložné sklíčko s dvomi otvormi s objemom 2 ml sa pipetou nanáša získaný vodný roztok po 2 ml, prikryje sa krycím sklíčkom s veľkosťou 24 x 40 mm a prezerá sa pod mikroskopom pri 60-násobnom zväčšení. Takto sa prezrie celý vodný roztok.

Veľkosť zárodku je 25 – 80 µm

Príloha č. 5
k nariadeniu vlády č. 67/2004 Z. z.

ZISŤOVANIE CÝST A LARIEV HÁĎATKA V PÔDNYCH VZORKÁCH

I. Princíp metódy

Cysty háďatka sa zisťujú flotačnou metódou z vopred pripravenej preosiatej zmesnej vzorky pôdy s hmotnosťou 200 g. Vzorka sa preplavuje slabým prúdom vody v upravenej Erlenmayerovej banke, pričom ľahké častice spolu s cystami sú vyplavované na sito s veľkosťou ôk 0,2 mm. Na site sa cysty zisťujú pomocou stereoskopickej binokulárnej lupy.

II. Pracovný postup

1. Suchá zmesná vzorka pôdy sa vysype do misky na úpravu vzorky, hrudky sa ľahko rozdrvia a preoseje sa sitom s veľkosťou ôk 2 mm.

2. Z preosiatej zeminy sa odoberie vzorka s hmotnosťou 200 g, vsype sa do Erlenmayerovej banky (priemer hrdla 48 mm, obsah 2 000 ml) s nadstavcom z umelej hmoty a zariadením na prívod vody a miešanie suspenzie a naplnenej 0,3 – 0,5 l vody. Suspenzia počas plavenia predchádzajúcej vzorky sa nechá odmočiť vo vode a niekoľkokrát sa dôkladne zamieša.

3. Obsah banky sa preplavuje 3 – 5 minút prúdom vody zavedením trubičky (ø 10 mm) s dýzami na rozvírenie suspenzie ku dnu banky. Prúd vody je počas prvých sekúnd prudký (aby sa obsah dôkladne premiešal) a hneď ako hladina suspenzie vystúpi asi do polovice výšky banky, upraví sa na veľmi slabý (cca 750 $ml.min^{-1}$). Ľahké organické častice spolu s cystami háďatka pretekajú k hornej časti banky nadstavcom na sito s veľkosťou ôk 0,2 mm (vyrobené z fotografickej misky 200 x 140 mm vyrezaním dna a nalepením mlynárskeho pletiva) a väčšina ťažkých minerálnych častíc zostáva v banke. Po skončení flotácie sa všetky častice pôdy a zvyšky detritu zachytené na nadstavci banky spláchnu na sito slabým prúdom vody. Po vyplavení každej vzorky sa banka s príslušenstvom dôkladne vypláchne.

4. Sito s vyplaveným materiálom sa vloží do misky so svetlým dnom rozdeleným na pozdĺžne pásy so šírkou 10 mm a celá jeho plocha sa postupne (podľa vyznačených pásov) prezrie pod binokulárnou lupou pri 10 – 40-násobnom zväčšení. Miesta so silnejšou vrstvou zachyteného materiálu sa pritom rozhŕňajú preparačnou ihlou tak, aby nedošlo k poškodeniu pletiva sita alebo k pretlačeniu tzv. mikrocýst okami sita. V prípade veľkého množstva detritu sa časť slabým prúdom vody (napr. laboratórnou striekačkou) oddelí na ďalšie sito, a to tak, aby neprišlo k stratám vyplaveného materiálu.

Možno použiť i filtračnú metódu:

Vyplavený materiál sa pomocou laboratórnej striekačky prenesie zo sita do lievika (ø 12 cm) vyloženého kruhovým filtračným papierom. Voda pritom odteká do podloženej vhodnej nádoby a cysty háďatka sa usádzajú najmä na vonkajšom okraji filtračného papiera, kde sa zisťujú binokulárnou lupou.

5. Nájdené cysty háďatok sa vyberajú pomocou navlhčenej preparačnej ihly alebo pinzetou. Ak sa ich determinácia nerobí hneď, presypú sa na dočasné uschovanie (v suchom stave) do skúmaviek alebo fľaštičiek.

Pri vysokom počte cýst sa obsah misky alebo filtračného papiera po obschnutí presype na plechový regulovač podľa Behringera, na ktorom sa opakovaným preguľovaním pri klepaní na dno a miernom naklonení cysty oddelia od detritu a netreba ich jednotlivo preberať.

6. Prezretý obsah a zvyšok zeminy sa v plechovom vedre asanujú (príloha č. 10). Potom sa dôkladne rozriedia vodou a vylejú do kanalizácie alebo na iné určené miesto.

Na plavenie pôdnych vzoriek možno využiť i prístroj MEKU-Bodenprobenextraktor (firma Anseln, Rakúsko). Pracovný postup sa riadi metodikou uvedenou výrobcom.

Po zistení prítomnosti háďatka zemiakového vo vzorke nasleduje determinácia Globodera rostochiensis alebo Globodera pallida morfometricky pomocou kľúča alebo sérologickou metódou DAS ELISA.

III. Determinácia cýst háďatka a určenie ich životnosti

A. Morfometricky pomocou kľúča

Kľúč háďatok rodu Globodera.

1. a) Cysta citrónovitého tvaru, t. j. s vulvou na výraznom výčnelku ..... 2.

b) Cysta vajcovitá až guľovitá, t. j. so zadnou časťou zaoblenou, vulva nie je umiestnená na výraznom
výčnelku ..... 3.

2. Heterodera spp.

3. Globodera spp., Punctodera spp.

a) Cysta zväčša hruškovitá až vajcovitá, matná, anus približne veľký ako vulva, dve vulvové okienka, hyalinná časť chvosta larvy výrazne (cca 1,5-krát) dlhšia ako stylet;

hostiteľské rastliny: pšenica, kukurica a iné trávy ..... Punctodera punctata;

b) cysta vajcovitá až guľovitá, zväčša lesklá, anus oveľa menší ako vulva, 1 vulvové okienko, hyalinná časť chvosta larvy približne rovnako dlhá ako stylet ..... 4.

4. a) Vzdialenosť vulva-anus v priemere viac ako 2-krát väčšia ako priemer vulvového okienka 5;

b) vzdialenosť vulva-anus v priemere menej ako 2-krát väčšia ako priemer vulvového okienka ..... 6.

5. a) Vzdialenosť vulva-anus v priemere 4,6 (2,7 – 8,9)-krát väčšia ako priemer vulvového okienka; medzi anusom a okienkom v priemere 21 (16 – 31) zvrásnených línií kutikuly; samičky biele so žltou fázou vývoja k hnedým cystám; rozšírená bazálna časť styletu lariev zaoblená, ľahko zahnutá dozadu (smerom k chvostu larvy);

hostiteľské rastliny: zemiaky, rajčiak, ľuľok baklažánový, ľuľok čierny a iné druhy čeľade ľuľkovité ..... Globodera rostochiensis;

b) vzdialenosť vulva-anus 2,1 – 2,5-krát väčšia ako priemer vulvového okienka; medzi anusom a okienkom v priemere 12 (8 – 20) zvrásnených línií kutikuly; samičky biele až krémové, bez žltej fázy vývoja k hnedým cystám; rozšírená bazálna časť styletu lariev zaostrená a ľahko zahnutá dopredu;

hostiteľské rastliny: ako pri druhu Globodera rostochiensis ..... Globodera pallida.

6. a) Koniec chvosta lariev slabo zaoblený; vzdialenosť vulva – anus v priemere 1,5 (0,9–2,8)-krát väčšia ako priemer vulvového okienka, medzi vulvou a anusom v priemere menej ako 14 zvrásnených línií kutikuly; samičky biele so žltou fázou vývoja k hnedým cystám; rozšírená báza styletu lariev – ako pri druhu Globodera rostochiensis;

hostiteľské rastliny: tabak, rajčiak, paprika, ľuľok baklažánový, nie zemiaky ..... Globodera tabacum;

b) koniec chvosta lariev zaostrený; samičky mliečno-krémovej farby, matné, bez žltej fázy vývoja k hnedým cystám;

– vzdialenosť vulva-anus v priemere 1,0 (0,8–1,7)-krát väčšia ako priemer vulvového okienka; medzi anusom a okienkom v priemere 7 – 8 zvrásnených línií kutikuly; rozšírená bazálna časť styletu lariev – ako pri druhu Globodera rostochiensis;

hostiteľská rastlina: Artemisia rubripes (palina) ..... Globodera artemisiae;

– vzdialenosť vulva-anus 1,8 – 2,2-krát väčšia ako priemer vulvového okienka; medzi anusom a okienkom v priemere 8 vrások kutikuly;

hostiteľské rastliny: väčší počet druhov čeľade astrovité vrátane niektorých bežných burín ..... Globodera millefolii.

Poznámky:

1. V kľúči nie sú uvedené druhy Globodera leptonepia (parazit zemiakov v Peru), Globodera mali (parazit jablone v Kazachstane) a niektoré ďalšie druhy, ktorých výskyt je vzácny a u nás nepravdepodobný.

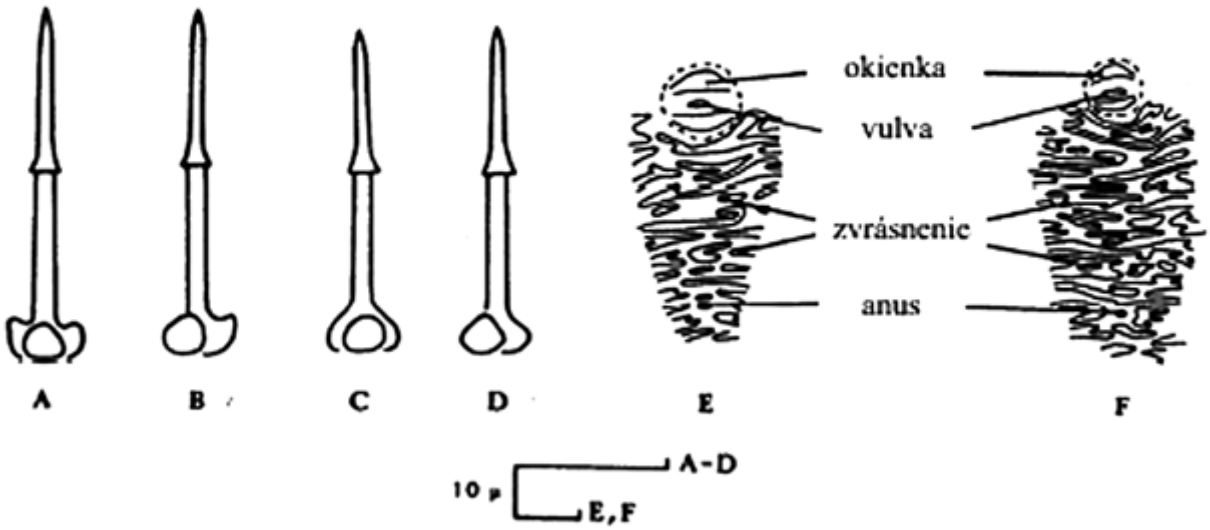
2. Na úplné bezpečné odlíšenie cýst háďatka zemiakového získaných z pôdy od iných druhov Globodera je spravidla potrebný väčší počet cýst (aspoň 10).

3. Pri rozbore pôdnych vzoriek je z uvedených druhov najpravdepodobnejšie zistenie výskytu Globodera rostochiensis a Punctodera punctata.

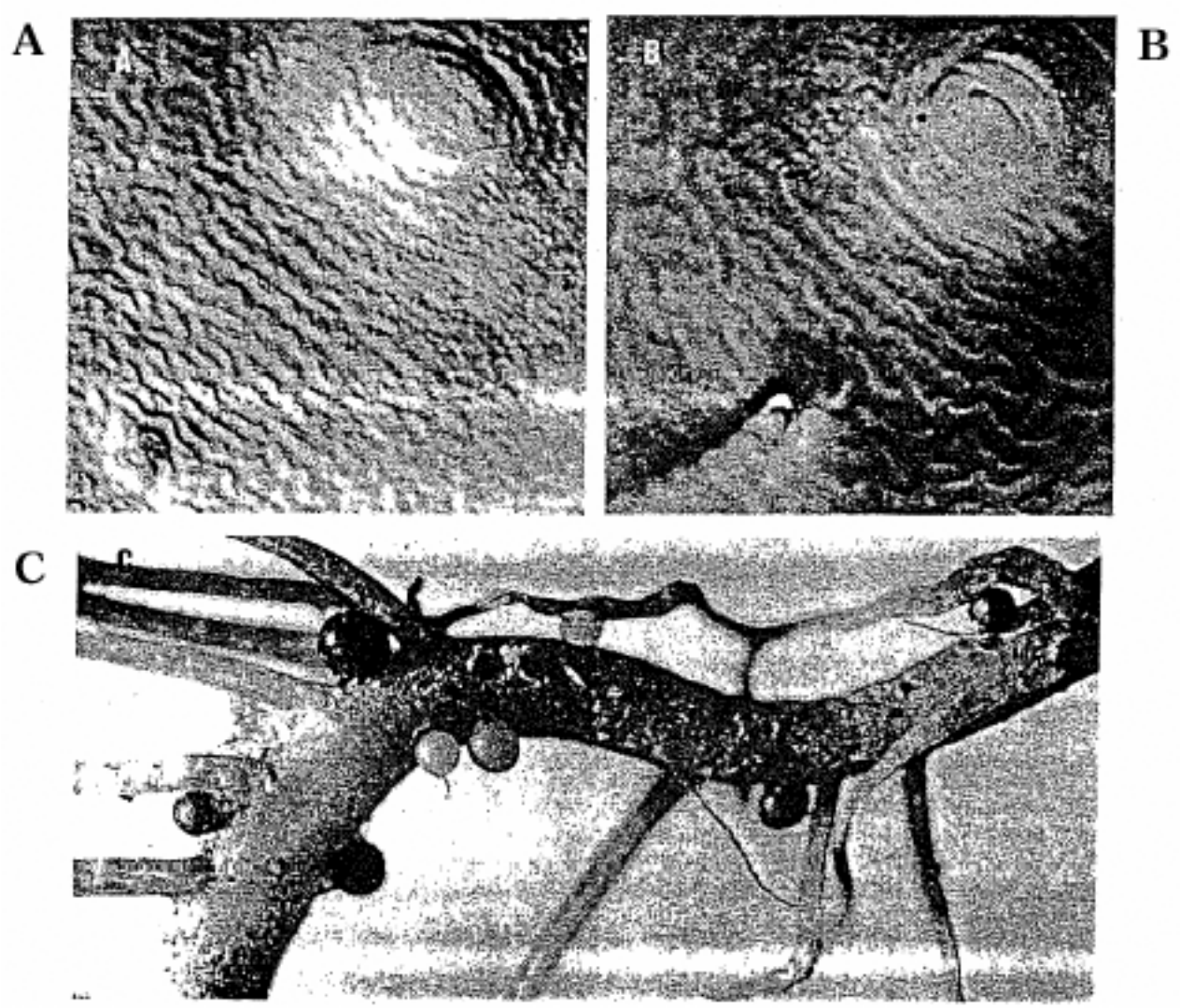
Mikroskopické vyšetrenie povrchu cýst.

Cysta sa vloží (najlepšie po 24-hodinovom predmáčaní) do kvapky vody na podložnom sklíčku a preparačnou ihlou alebo skalpelom sa pod binokulárnou lupou odreže jej zadná tretina. Z odrezanej tretiny cysty sa preparačnou ihlou odstráni vnútorný obsah. Zostávajúci obsah sa prenesie do ďalšej kvapky vody (alebo laktofenolu) na podložnom sklíčku tak, aby vonkajšia časť kutikuly (vypuklá strana) bola obrátená k pozorovateľovi. Prikryje sa krycím sklíčkom a prezerá pod mikroskopom aspoň pri 75-násobnom zväčšení. Sleduje sa veľkosť okienka (t. j. priesvitného areálu okolo vulvy) a anusu (pri háďatku zemiakovom malý tmavší bod, od ktorého vybiehajú smerom od vulvy dve línie v podobe písmena V), ich vzdialenosť a počet zvrásnených línií kutikuly medzi nimi.

GLOBODERA ROSTOCHIENSIS
GLOBODERA PALLIDA



A, B – *Globodera pallida* – Stylet 2. larválneho štádia. C, D – *Globodera rostochiensis* – Stylet 2. larválneho štádia. E – *Globodera pallida* – Análno-vulvová časť cysty. F – *Globodera rostochiensis* – Análno-vulvová časť cysty



A – *Globodera rostochiensis* – Análno-vulvová časť cysty. B – *Globodera pallida* – Análno-vulvová časť cysty. (Foto: A. R. Stone). C – *Globodera rostochiensis* – Samičky a cysty vyčnievajúce z koreňov zemiakov. (Foto: C. C. Doncaster)

Mikroskopické vyšetrenie a určenie životnosti obsahu cysty:

a) Vo vode

Cysta sa vloží do kvapky na podložnom sklíčku a vnútorný obsah sa z nej vypreparuje pomocou preparačnej ihly (súčasne s vyšetrovaním povrchu cysty) alebo sa z nej vytlačí miernym tlakom na krycie sklíčko.

Ak je k dispozícii viac cýst, možno ich pod krycím sklíčkom roztlačiť naraz niekoľko. Väčší počet cýst (aspoň 10) možno aj jemne rozdrviť asi v 0,5 ml vody v malej hrubostennej skúmavke pomocou sklenenej tyčinky alebo v ručnom homogenizátore na 5 cm. Zo vzniknutej suspenzie sa pipetou odoberie kvapka na mikroskopické vyšetrenie.

U lariev háďatka sa sledujú znaky uvedené v determinačnom kľúči. Živé larvy majú červovitý tvar tela, nenarušenú štruktúru vnútorných orgánov, v prednej časti tela a na konci chvosta telový obsah hyalinný, v strednej časti tela zrnitý; niekedy možno pozorovať i pomalý pohyb lariev. Telový obsah mŕtvych lariev je zrnitý po celej dĺžke tela, býva silne vakuolizovaný a tvar tela je často zalomený.

V živých embryonoch sú viditeľné kontúry esovite stočenej larvy a hyalinná predná časť jej tela; ostatný obsah je rovnomerne zrnitý. Mŕtve embryony majú vnútorný obsah dezintegrovaný, lebo sú zle vyvinuté alebo deformované. Súčasťou obsahu cysty sú aj prázdne vaječné obaly po vyliahnutých larvách.

b) V koreňovom difuzáte

Zistenie životnosti cýst a určenie podľa lariev možno uľahčiť uložením cýst pred mikroskopickým vyšetrením na 6 – 8 dní do malého množstva (cca 0,5 ml) koreňového difuzátu zemiakov. Pri väčšom počte cýst možno dobu pôsobenia difuzátu predĺžiť až na 12 dní i viac a drvenie cýst urobiť priamo v difuzáte. Zvýši sa tak počet lariev, ktoré sa vyliahnu z vaječných obalov a pohybujú sa, čím je určenie životnosti veľmi uľahčené.

Príprava koreňového difuzátu: zdravé, najlepšie naklíčené hľuzy zemiakov sa uložia do vlhkého piesku na zakorenenie. 5 – 10 vzídených výhonkov so zdravými hustými koreňmi sa opláchne vodou a korene výhonkov sa ponoria do vysokej kadičky (150 ml) s destilovanou vodou na 24 hodín. Získaný roztok koreňového difuzátu sa prefiltruje a uloží v tmavej fľaštičke (napr. liekovke na 100 ml) pri teplote 4 – 12 °C. Je použiteľný počas niekoľkých mesiacov.

Nepoužité cysty háďatka sa uskladnia ako dokladový materiál v suchom stave vo fľaštičkách počas jedného roka.

B. Sérologická metóda DAS ELISA

Ku každej diagnostickej súprave ELISA je priložená metodika testovania, podľa ktorej sa postupuje.

Metodika testovania podľa metodiky priloženej k diagnostickej súprave ELISA Loewe Biochemica GmbH, Nemecko.

Príprava vzorky:

Z celej vzorky sa vyberie iba jedna plná cysta, ktorá sa dôkladne zhomogenizuje v 5 µl homogenizačného pufra (10 mM TRIS/HCl, pH 7,4) v 1,5 ml Ependorfovej skúmavke. Pod binokulárnym mikroskopom sa skontroluje, či sú vajíčka dôkladne zhomogenizované.

Pridá sa 150 µl homogenizačného pufra a ďalšími 160 µl homogenizačného pufra sa kvantitatívne zmyjú zvyšky cysty z homogenizátora.

Vzorky sa vložia do vodného kúpeľa na 10 minút pri 100 °C.

Centrifuguje sa pri 13 000 rpm 10 minút a po centrifugácii sa resuspenduje.

Príprava platne:

Riadky A, B, E a F sa naplnia 100 µl kótovacieho pufra. Do jamiek B3 a E3 sa napipetuje po 100 µl nariedeného štandardného antigénu Globodera pallida. Do jamiek B3 a F3 sa napipetuje 100 µl nariedeného štandardného antigénu Globodera rostochiensis. Postupne sa riedia (kalibračné krivky) oba štandardné antigény týmto spôsobom:

Z jamky A3 sa prenesie 100 µl do jamky A4, premieša sa, z A4 sa prenesie 100 µl do A5, premieša sa atď.

Do riadkov C, D a G, H sa pridá 100 µl nariedenej vzorky s kótovacím pufrom v pomere 1:1 a 1:9.

Takto pripravené platne sa prikryjú a inkubujú pri izbovej teplote cez noc.

Premývanie:

Platne sa premývajú 5x s PBS pufrom.

Postkótovanie:

Do každej jamky sa pridá 200 µl postkótovacieho pufra a prikryté platne sa inkubujú 30 minút pri izbovej teplote.

Premývanie:

Platne sa premývajú 5x s PBS pufrom.

Reakcia antigén/protilátka:

Do riadkov A, B, C a D sa pridá 100 µl nariedenej protilátky MAB 1 rp a do riadkov E, F, G a H sa pridá 100 µl nariedenej protilátky MAB 2r. Prikryté platne sa inkubujú 1 hodinu pri 37 °C.

Premývanie:

Platne sa premývajú 5x s PBS pufrom.

Označenie protilátky AP – konjugátom:

Do každej jamky sa pridá 100 µl protilátky AP – konjugát a prikryté platne sa inkubujú 1 hodinu pri 37 °C.

Premývanie:

Platne sa premývajú 5x s PBS pufrom.

Enzýmová skúška:

Do každej jamky sa pridá 100 µl substrátového roztoku. Odokryté platne sa inkubujú 1 až 2 hodiny pri 37 °C. Intenzita zafarbenia sa meria pri vlnovej dĺžke 405 nm.

IV. Určenie intenzity zamorenia pôdy (odporúčaná metodika)

Stupeň zamorenia pôdy sa vyjadruje počtom lariev na 1 g zeminy. Stanovuje sa z 30 až 50 náhodne vybraných cýst, pri menšom počte zo všetkých zistených cýst.

Cysty sa uložia do malej hrubostennej skúmavky alebo ručného homogenizátora asi s 0,5 ml koreňového difuzátu zemiakov. Po 8 – 15 dňoch sa jemne, ale dôkladne rozdrvia sklenenou tyčinkou a doplní sa voda (pri súčasnom opláchnutí tyčinky) na celkový objem 1 – 2 ml (podľa hustoty suspenzie z rozdrvených cýst). Niekoľkonásobným nasatím a vypustením späť sa suspenzia pomocou pipety dôkladne premieša a odoberie sa kvapka na podložné mikroskopické sklíčko. Pod celou plochou krycieho sklíčka sa potom asi pri 75-násobnom zväčšení počítajú živé larvy a embryony. Pri prezeraní plochy pod krycím sklíčkom sa postupuje podľa prílohy č. 4 bodu II. 17. Zo suspenzie sa odoberie a prezrie spolu 5 kvapiek a z nich sa vypočíta priemerný počet živých lariev a embryonov v jednej kvapke. Počet živých lariev a embryonov v 1 g zeminy (N) sa vypočíta podľa vzorca:

$$N = \frac{m.n.k.y}{200.x}, \text{ kde}$$

m – priemerný počet živých lariev a embryonov v jednej kvapke,

n – dopredu zistený počet kvapiek pre danú pipetu z 1 ml suspenzie,

k – celkový objem suspenzie v ml,

y – počet cýst na 200 g zeminy,

x – počet skúmaných (rozdrvených) cýst.

Intenzita zamorenia pôdy počtom živých lariev a embryonov v 1 g sa hodnotí takto:

slabá ..... do 10,

stredná .....11 – 50,

silná .....viac ako 50.

V. Upozornenie

Podmienkou vykonávania analýz vzoriek pôdy na prítomnosť cýst háďatka, ich určenia i stanovenia stupňa zamorenia pôdy, je dôkladné a praktické zaškolenie zodpovedného pracovníka.

Príloha č. 6
k nariadeniu vlády č. 67/2004 Z. z.

POSTUP PRI ZISTENÍ VÝSKYTU RAKOVINY A HÁĎATKA A VYHLÁSENIE KARANTÉNY

I. Postup pri zistení rakoviny alebo háďatka

1. Každý, kto zistí výskyt alebo má podozrenie z výskytu rakoviny alebo háďatka, je povinný ohlásiť to okresnému fytoinšpektorovi. Fytoinšpektor zabezpečí odber vzoriek a ich diagnostikovanie v laboratóriu kontrolného ústavu vo Vígľaši. Ak sa zistí rakovina, výrobca je povinný odobrať a odovzdať pracovníkovi kontrolného ústavu časti rastlín s nádormi a aj odpadnuté nádory, nenapadnuté hľuzy zužitkovať podľa prílohy č. 8 bodu 2a a ostatné rastlinné zvyšky zlikvidovať podľa pokynov fytoinšpektora (príloha č. 10).

2. Ak sa potvrdí pozitívny výskyt, nahlási laboratórium túto skutočnosť kontrolnému ústavu.

3. Kontrolný ústav postupuje podľa § 5 ods. 1.

4. Návrh na vyhlásenie karantény obsahuje vymedzenie zamorených pozemkov a ohrozeného územia a rastlinolekárske opatrenia (bod II) vrátane možnosti priameho ničenia rakoviny alebo háďatka (príloha č. 11).

5. Pri zistení výskytu na pozemku, ktorý nie je doteraz evidovaný ako zamorený, alebo pri zistení výskytu, pri ktorom je potrebná zmena vymedzenia ohrozeného územia alebo zmena rastlinolekárskych opatrení, postupuje kontrolný ústav podľa bodu 3. Návrh obsahuje zmenu rastlinolekárskych opatrení alebo zmenu vymedzenia zamorených pozemkov a ohrozeného územia. Ak nie je zmena potrebná, kontrolný ústav oznámi výsledok zistenia fytoinšpektorovi a fytoinšpektor zainteresovaným výrobcom.

6. Pri zistení rakoviny alebo háďatka fytoinšpektor postupuje podľa prílohy č. 7 na overenie agresívneho patotypu. V pozitívnom prípade sa u rakoviny preskúša jeho virulencia (príloha č. 7 bod II). Výrobca je povinný umožniť vykonanie príslušnej skúšky zamoreného pozemku.

II. Rastlinolekárske opatrenia – povinnosti výrobcov na zamorených pozemkoch a v ohrozenom území

1. Základné povinnosti na zamorených pozemkoch sú uvedené v § 5 ods. 2 a 3.

2. Zo zamorených pozemkov sa nesmie premiestňovať zemina, organické hnojivá ani rastlinné zvyšky na iné pozemky.

3. V ohrozenom území

a) sa nesmie množiť sadivo zemiakov s výnimkou sadiva na vlastnú potrebu v tomto území,

b) pri výskyte agresívneho patotypu sa môžu pestovať len odrody zemiakov povolené kontrolným ústavom, a to na tom istom pozemku len raz za 6 rokov,

c) pre zemiaky presunuté (napr. na uskladnenie, triedenie a pod.) z nekaranténneho územia platia rovnaké opatrenia, akoby tieto zemiaky boli vypestované v ohrozenom území (príloha č. 8).

4. Z ohrozeného územia sa nesmie premiestňovať pôda ani pestovateľské substráty (napr. organické hnojivá a komposty). Presun zemiakov a iného rastlinného tovaru s priľnutou zeminou (škôlkarské výpestky, cibuľoviny, buľvoviny, koreňová zelenina a iné) podlieha schváleniu kontrolným ústavom (príloha č. 8).

5. Použité stroje, dopravné prostriedky, náradie a obuv:

a) na zamorených pozemkoch sa musia pred presunom z týchto pozemkov dôkladne očistiť a pred použitím na iných pozemkoch umyť vodou, a to na mieste, odkiaľ nemôže dôjsť k rozširovaniu zárodkov rakoviny alebo háďatka; ak ide o agresívny patotyp, musia sa dezinfikovať (príloha č. 10),

b) na ostatných pozemkoch v ohrozenom území sa musia pred premiestnením mimo tohto územia dôkladne očistiť od prichytenej zeminy. Čistenie, umývanie, prípadne dezinfekciu je povinný zaistiť výrobca.

6. Podľa miestnych podmienok, najmä v sadivovej oblasti a pri výskyte agresívnych patotypov, možno nariadiť ďalšie vhodné opatrenia, ako napríklad úplný zákaz pestovania hostiteľských rastlín, asanáciu zamorených pozemkov, vymedzenie ohrozeného územia s účelnými preventívnymi opatreniami (napr. 6-ročná rotácia zemiakov, zákaz alebo obmedzenie pestovania a distribúcie sadiva zemiakov) a iné.

III. Vymedzenie zamorených pozemkov a ohrozeného územia

Vykoná sa na základe komplexného posúdenia výsledkov zisťovania. Zamorené pozemky môžu zahrňovať jeden kataster alebo jeho časť, ale aj viac katastrov. Do ohrozeného územia sa spravidla zahrnú všetky pozemky výrobcu, u ktorého sa nachádza zamorený pozemok v danom katastri, prípadne aj okolité pozemky iných výrobcov, pri ktorých je pravdepodobné, že sa na ne rozšírili alebo môžu rozšíriť zárodky rakoviny alebo háďatka (obrábanie pôdy rovnakým náradím, vzájomná výmena sadiva, vodná erózia na svahoch a pod.). Prísnejšie kritériá sa uplatnia v sadivovej oblasti.

Tam, kde hranica zamorených pozemkov alebo ohrozeného územia nie je totožná s hranicou katastra alebo jeho intravilánu, treba túto hranicu podrobne popísať pomocou parcelných čísel hraničných pozemkov, pričom hraničné pozemky už neležia v ohrozenom území. Príklad: „Hranicu zamorených pozemkov a ohrozeného územia tvorí na východe cesta Lehota – Nováky, parc. číslo 2083, na juhovýchode a juhu okraj lesa, parc. č. 217/2, na západe potok, parc. č. 221/7, na severozápade lúka, parc. č. 222/4, a na severe je hranica totožná s hranicou katastra Lehota.“

Tam, kde okrem intravilánu patria medzi zamorené pozemky len ojedinelé pozemky mimo intravilán, stačí uviesť len parcelné čísla týchto pozemkov (namiesto popisu hraníc).

Príloha č. 7
k nariadeniu vlády č. 67/2004 Z. z.

OVEROVANIE AGRESÍVNYCH PATOTYPOV RAKOVINY A HÁĎATKA

Skúške na agresívny patotyp podliehajú populácie pôvodcu rakoviny a háďatka pochádzajúce z novozamorených pozemkov vrátane pozitívneho výskytu zisteného pri preskúšavaní zamorenosti pozemkov, ak sa na nich od posledného overovania patotypu pestovali zemiaky. Overenie patotypu je nevyhnutné na všetkých zamorených pozemkoch, na ktorých sa na ničenie rakoviny použijú rezistentné odrody zemiakov (príloha č. 11). V ostatných prípadoch sa v jednom katastri overujú najviac 3 populácie (3 zamorené pozemky). Pri väčšom počte zamorených pozemkov sa vyberú predovšetkým silne zamorené pozemky.

I. Overovanie agresívnych patotypov rakoviny

Nájdené nádory rakoviny (v čo najväčšom množstve) odošle fytoinšpektor spolu v 3 kg zamorenej zeminy (zemina a nádory osobitne v samostatnom balení), so záznamom o odbere vzorky, prípadne aj zoznamom vzoriek do laboratória kontrolného ústavu vo Vígľaši, ktoré urobí skúšku. Zaslaná vzorka musí byť dôkladne zabezpečená proti rozsypaniu. Vzorky musia byť označené podľa prílohy č. 3. Ak nemôže zaslať nádory, skúška sa vykoná iba so zeminou. Skúška sa vykonáva podľa prílohy č. 12 bodu II. 2. A. b).

Infekčným materiálom sa inokulujú hľuzy odrôd silne náchylných na všetky agresívne patotypy vyskytujúce sa na Slovensku, ale rezistentné voči bežnému patotypu 1, napríklad Albina, Eba, Kobra, Lukava, Ostara a Zlata. Na skúšku sa použijú najmenej 3 odrody a ako kontrolná odroda náchylná na patotyp 1, napríklad kríženec HR 23/495. Z každej odrody sa testujú najmenej 3 hľuzy.

Ak sú výsledky negatívne a nie je napadnutá kontrolná odroda, musí sa skúška zopakovať. Ak sa zistia nádory na niektorej z testovaných odrôd, ide o agresívny patotyp.

Ak je pri výskyte v poraste zemiakov napadnutá odroda rezistentná voči patotypu 1, ide sa o agresívny patotyp a overovanie sa nevykoná.

Výsledky overovania za príslušný rok spracuje laboratórium a zašle kontrolnému ústavu.

II. Preskúšavanie virulencie agresívnych patotypov rakoviny

Na testovanie sa použijú odrody zemiakov povolené na pestovanie na zamorených pozemkoch s výskytom agresívnych patotypov alebo ďalšie odrody odporúčané kontrolným ústavom.

Testuje sa populácia agresívneho patotypu z najsilnejšie zamoreného pozemku. Skúška sa vykonáva podľa prílohy č. 12 bodu II. 2. A. Použije sa najmenej 50 hľúz každej odrody v T-teste a pri negatívnom výsledku sa v K-teste použije 50 hľúz z každej odrody.

Po vyhodnotení skúšok sa na pestovanie na zamorených pozemkoch povolia odrody s najpriaznivejšou reakciou na infekciu miestnej populácie rakoviny. Vylúčia sa predovšetkým odrody silne náchylné.

III. Overovanie agresívnych patotypov háďatka

Zo zamoreného pozemku (najlepšie z ohniska výskytu) odoberie fytoinšpektor cca 3 kg zeminy podľa prílohy č. 3 a odošle ich do laboratória kontrolného ústavu vo Vígľaši, ktoré skúšku uskutoční. Zasielaná vzorka musí byť dôkladne zabezpečená proti rozsypaniu a riadne označená podľa prílohy č. 3.

Na skúšku sa použije 5 hľúz odrody rezistentnej voči patotypu Ro 1 a ako kontrola 3 hľuzy náchylnej odrody slovenského sortimentu alebo kríženca HR 23/495. Používajú sa čo najskoršie odrody.

Testovacie hľuzy sa upevnia na kónickú inokulačnú trubičku spôsobom opísaným v prílohe č. 12 bode II. 2. A. b).

Pred založením skúšky sa zistí intenzita zamorenia pôdy (príloha č. 5). Ak je v 200 g zeminy počet cýst nižší ako 40, treba zeminu obohatiť potrebným množstvom cýst, ktoré sa získajú izoláciou z ďalších vyplavených vzoriek z toho istého zamoreného pozemku. Ak sa nepodarí získať potrebný počet cýst, namnožia sa cysty v laboratórnych podmienkach tak, že do zamorenej zeminy v kvetináči sa zasadia hľuzy náchylného kríženca HR 23/495 a primerane sa zavlažujú 8 – 12 týždňov. Vyplavovaním sa zistí, či je intenzita zamorenia dostatočná. Ak áno, overovanie agresívneho patotypu sa uskutoční až o rok.

Inokulované hľuzy sa primerane zavlažujú a po 8 – 12 týždňoch sa vykoná hodnotenie. Z každej trubičky sa zložia gumičky, obsah sa vytlačí a korienky na obvode koreňového balu sa prezrú lupou (zväčšenie 3- až 6-krát).

Hodnotenie skúšky.

Agresívny patotyp je v prípade zistenia 15 a viac cýst na koreňovom bale rezistentných odrôd alebo pri zistení menej ako 15 cýst, ak predstavuje zistený počet viac ako 1/10 počtu cýst zistených na kontrolných koreňových baloch. Napadnutie kontrolných koreňových balov musí dosiahnuť minimálne 50 cýst na koreňový bal.

Pri slabšom napadnutí testovacích odrôd a dostatočnom napadnutí kontroly považuje sa populácia háďatka za patotyp Ro 1. Ak sú kontrolné koreňové baly nedostatočne napadnuté, pokus sa za optimalizácie podmienok zopakuje.

Výsledky overovania sa zaznamenávajú podľa tohto vzoru:

Okres:

Obec	Katastrálne územie	Výrobca	Názov honu	Parcelné číslo	Testovacia odroda	Počet cýst háďatka na jednotlivých koreňových baloch

Spracované výsledky overovania patotypu Ro 1 sa zasielajú kontrolnému ústavu.

Likvidácia (asanácia) zamorenej zeminy a rastlinného materiálu z opísaných testov sa vykonáva podľa prílohy č. 10.

IV. Zmena rastlinolekárskych opatrení

Ak boli doteraz v platnosti len rastlinolekárske opatrenia proti pôvodnému patotypu, vykoná sa ich zmena podľa prílohy č. 14.

Príloha č. 8
k nariadeniu vlády č. 67/2004 Z. z.

MOŽNOSTI ZUŽITKOVANIA A PREPRAVA ZEMIAKOV A INÉHO RASTLINNÉHO MATERIÁLU ZO ZAMORENÝCH POZEMKOV A OHROZENÉHO ÚZEMIA

1. Základné možnosti zužitkovania produkcie zo zamorených pozemkov sú uvedené v § 6 ods. 1.

2. Zemiaky z ostatných pozemkov (nezamorených) v ohrozenom území možno použiť

a) akokoľvek v tom istom ohrozenom území,

b) na konzumáciu vo veľkých stravovacích strediskách vybraných miest, a ak nejde o ohrozené územie zamorenými pozemkami s výskytom agresívneho patotypu, aj mimo vybraných miest,

c) na predaj vo vybraných mestách, ale len vtedy, ak ide o zemiaky dodané do 15. augusta alebo chemicky ošetrené proti klíčeniu a označené ako nevhodné na sadenie a ak nepochádzajú z územia ohrozeného zamorenými pozemkami s výskytom agresívnych patotypov.

3. Ak sa zistí rakovina alebo háďatko mimo zamorených pozemkov v blízkosti množiteľských plôch zemiakov, možno sadivo zemiakov pochádzajúce zo zamoreného pozemku použiť v uznanom stupni množenia, ale možno ho premiestniť, len

a) ak ide o háďatko, na zamorené pozemky s výskytom háďatka schváleného kontrolným ústavom,

b) ak ide o rakovinu, do vybraných okresov.

4. Veľké stravovacie strediská, vybrané mestá a vybraní spracovatelia nesmú byť v sadivovej oblasti s výnimkou zamorených pozemkov. Vybraní spracovatelia musia byť vybavení sedimentačnými žumpami na usadzovanie pevných častíc z plaviacich a pracích vôd, ktoré zodpovedajú objemu výroby jednej sezóny alebo z ktorých sa sedimenty v priebehu kampane premiestňujú na blízke medziskládky, kde sa s nimi manipuluje podľa prílohy č. 9 bodu I.

5. Zemiaky sa zo zamorených pozemkov prepravujú v dopravných prostriedkoch, z ktorých obsah nemôže vypadávať a ktorých ložný priestor možno dobre vyčistiť, prípadne vydezinfikovať. Prepravujú sa bez medziskládkovania priamo na miesto spotreby.

6. Dodávateľ je povinný informovať príjemcu zemiakov, že zásielka pochádza zo zamorených pozemkov, prípadne zo zamorených alebo nezamorených pozemkov háďatkom alebo rakovinou, prípadne ich agresívneho patotypu, a dohodnúť s ním spôsob zabezpečenia príslušných rastlinolekárskych opatrení uvedených v tejto prílohe. Dodávateľ zároveň vyznačí na dopravnom prostriedku a na dokladoch, ktoré tovar sprevádzajú a ktoré odovzdáva odberateľovi, v ktorom katastri boli zemiaky vypestované v karanténe, či pochádzajú zo zamorených alebo nezamorených pozemkov rakovinou alebo háďatkom a či ide o bežný alebo agresívny patotyp.

7. Odberateľ, prípadne dodávateľ zemiakov zo zamorených pozemkov je povinný zabezpečiť:

a) po vyložení zemiakov dôkladné mechanické vyčistenie ložného priestoru dopravného prostriedku, prípadne paliet, a ak zemiaky pochádzajú zo zamoreného pozemku s výskytom agresívneho patotypu, jeho umytie vodou v mieste, odkiaľ sa nemôžu rozširovať zárodky rakoviny a háďatka; ak ide o zemiaky z pozemku zamoreného agresívnym patotypom, vykoná aj chemickú dezinfekciu podľa prílohy č. 10,

b) dôkladné mechanické vyčistenie miesta vykládky, prekládky a skladovania a odvoz zvyškov zeminy a hľúz do povolených odpadových skládok schválených kontrolným ústavom z hľadiska ochrany proti šíreniu rakoviny a háďatka,

c) vrátenie vriec a paliet dodávateľom; v prípade zemiakov zo zamorených pozemkov s výskytom agresívnych patotypov ich asanáciu podľa prílohy č. 10 alebo spálenie.

8. Spôsob prepravy a zužitkovanie zemiakov zo zamorených pozemkov schvaľuje a podmienky na ich realizáciu stanovuje príslušný fytoinšpektor po dohode s príslušným fytoinšpektorom miesta zužitkovania zemiakov.

Fytoinšpektor v okrese, z ktorého sa zemiaky expedujú, oznámi fytoinšpektorovi v okrese, do ktorého sa dodávajú, písomne tieto údaje: adresu odosielateľa, kataster, v ktorom boli zemiaky vypestované, presúvané množstvo, odrodu, pôvod zemiakov (či pochádzajú zo zamorených alebo nezamorených pozemkov rakovinou alebo háďatkom), či ide o bežný alebo agresívny patotyp a adresu odberateľa. Fytoinšpektor vykonáva kontrolu dodržiavania opatrení vyplývajúcich pre dodávateľa a odberateľa z tejto prílohy.

9. Železničná stanica v oblasti zamorených pozemkov sa môže na prekladanie zemiakov vypestovaných mimo zamorených pozemkov a ohrozeného územia použiť len celkom výnimočne a zásielky sa musia prekladať z dopravných prostriedkov priamo do železničných vagónov.

Nakladanie a prekladanie zemiakov zo zamorených pozemkov pri doprave po železnici sa spravidla vykonáva na stanici umiestnenej v oblasti zamorenia, prípadne v inej oblasti so zamorenými pozemkami; len z veľmi závažných dôvodov je to možné na stanici nachádzajúcej sa mimo oblasti zamorených pozemkov.

10. Táto príloha platí obdobne a v primeranom rozsahu aj pre zužitkovanie a prepravu iných rastlín, na ktorých je prilepená zemina.

Príloha č. 9
k nariadeniu vlády č. 67/2004 Z. z.

OPATRENIA PRI PRIEMYSELNOM SPRACOVANÍ ZEMIAKOV

Odpad, usadeniny zo sedimentačných nádrží a drvina zemiakov od spracovateľov môžu obsahovať zárodky rakoviny a háďatka, a to i u spracovateľov spracúvajúcich zemiaky z nezamorených pozemkov. Na to treba prihliadať pri schvaľovaní ich prepravy, miesta uloženia a ďalšieho použitia a podľa miestnych podmienok stanoviť primerané rastlinolekárske opatrenia.

I. Opatrenia u spracovateľov

1. Vybraní spracovatelia prijímajú prednostne dodávky zemiakov zo zamorených pozemkov v dohodnutých termínoch.

2. Od vybraných spracovateľov sa nesmú nespracované zemiaky ďalej premiestňovať.

3. Odpad (zemina, kamene a zvyšky hľúz) z miest uloženia zemiakov sa odvážajú na odpadové skládky.

4. Usadeniny zo sedimentačných nádrží sa vyvážajú na miesta schválené fytoinšpektorom. Spôsob a podmienky ich ďalšieho využitia stanoví fytoinšpektor v súlade s bodom II.

5. Drvina zemiakov od vybraných spracovateľov sa nesmie dodať do sadivovej oblasti. Spôsob a podmienky využitia drviny od vybraných spracovateľov a v sadivovej oblasti aj od ostatných spracovateľov stanoví fytoinšpektor v súlade s bodom IV.

II. Asanácia usadenín v sedimentačných nádržiach a ich využitie

1. Sedimentačná nádrž musí byť vybavená zariadením (ponornou stenou), ktoré zabraňuje úniku peny a nečistôt plávajúcich na hladine do odtoku.

2. Po skončení kampane sa musia sedimenty v nádrži udržiavať úplne pod hladinou vody, a to najmenej do 31. marca.

3. Po vypustení vody treba

a) asanovať okraje (brehy) nádrže až k miestam, kam najviac zasahovala voda, granulovanou močovinou v dávke 1,5 kg na m^2,

b) pri nádržiach vybavených zvislými betónovými alebo panelovými stenami spláchnuť vodou steny nádrže nad sedimentmi až do výšky, kam najvyššie dosahovala hladina vody.

4. Pred vysychaním povrchu sedimentov, najneskôr do 30. apríla, prekryť celú sedimentačnú nádrž čiernou fóliou a upevniť ju tak, aby nikde nedošlo k odkrytiu sedimentov.

5. Čiernu fóliu odstrániť najskôr po 3 mesiacoch od jej položenia, nie však skôr ako 1. augusta.

6. Tam, kde treba vyprázdňovať sedimentačné nádrže počas kampane, možno použiť čiernu fóliu podľa bodov 4 a 5 aj na sedimenty v mieste, kam boli premiestnené. Súčasne treba vykonať opatrenia, aby okolie takto asanovaných hromád sedimentov nebolo zamorené (napr. uskutočniť asanáciu močovinou).

7. Sedimenty možno po uvedenej asanácii využiť s týmto obmedzením:

a) možno ich použiť len na pozemky, na ktorých sa nebudú pestovať zemiaky skôr ako o rok,

b) od spracovateľov spracovávajúcich zemiaky zo zamorených pozemkov sa nesmú použiť v sadivovej oblasti.

III. Využitie starých sedimentov uložených na zásobnej skládke

Skôr ako sa začnú sedimenty zo starej skládky využívať, musia sa odobrať vzorky sedimentov podľa prílohy č. 3 a zaslať na rozbor do laboratória kontrolného ústavu vo Vígľaši. Až po negatívnom výsledku rozborov možno sedimenty využívať, a to takto:

a) v sadivovej oblasti sa nesmú použiť na ornú pôdu a zavlažované dočasné lúky, na ktorých sa počíta s pestovaním zemiakov; v ostatných oblastiach sa nesmú použiť na pozemky, na ktorých sa budú pestovať zemiaky skôr ako o rok;

b) sedimenty od vybraných spracovateľov sa nesmú použiť v sadivovej oblasti.

Pri zistení výskytu rakoviny alebo háďatka v sedimentoch sa postupuje v súlade s prílohou č. 6.

IV. Využitie zemiakovej drviny zo škrobární

Zemiaková drvina zo škrobární, ak nie je tepelne spracovaná pri 100 °C, môže obsahovať živé zárodky rakoviny a háďatka. Roztrusovaním drviny pri preprave a použitím nevyzretého hnoja z obdobia ich skrmovania sa môžu zárodky dostať na ornú pôdu.

Preto sa drvina zo škrobární, ktoré spracovávajú zemiaky zo zamorených pozemkov, nesmie dodávať do sadivovej oblasti. Pre odberateľov drviny z týchto škrobární a pre všetkých odberateľov v sadivovej oblasti sa odporúčajú tieto opatrenia:

a) zamedziť roztrusovaniu surovej drviny pri preprave a ďalšej manipulácii,

b) maštaľný hnoj vyprodukovaný v období skrmovania drviny (vrátane silážovanej) ukladať osobitne na hromady aspoň 1,5 m vysoké, tie prikryť vrstvou zeminy a pri vysychaní ich polievať močovkou v dávke 100 litrov na m^3,

c) takto ošetrený hnoj použiť na hnojenie najskôr o 3 mesiace.

Príloha č. 10
k nariadeniu vlády č. 67/2004 Z. z.

ASANÁCIA A LIKVIDÁCIA MATERIÁLOV KONTAMINOVANÝCH RAKOVINOU A HÁĎATKOM

Zárodkami rakoviny a háďatka môžu byť kontaminované skladovacie priestory, pozberové linky a všetky zariadenia, s ktorými prišli do styku zamorené zemiaky, ložné plochy dopravných prostriedkov a obaly od zemiakov (ohradové palety, vrecia a pod.), traktory a iné mechanizačné prostriedky, náradie a obuv použité na zamorenom pozemku, skleníky vrátane zariadení použitých pri pestovaní napadnutých hostiteľských rastlín, rastlinné zvyšky, zvyšky zeminy, smeti v skladoch a pod.

I. Chemická asanácia

Trvalé zoosporangiá pôvodcu rakoviny a cysty háďatka možno ničiť týmito prostriedkami:

Prostriedok	**Koncentrácia (v %)**	**Minimálny čas expozície (v min)**
hydroxid sodný	3 - 5	60
chlórnan sodný	10	60
čpavková voda (24 %)	10	60
Persteril (kyselina peroctová)	1,5	60

Pred asanáciou treba kontaminované predmety a priestory zbaviť zvyškov zeminy (mechanicky alebo umytím vodou, vysatím priemyselným vysávačom, vyfúkaním neprístupných miest strojov a zariadení stlačeným vzduchom a pod.). Zvyšky a použitú vodu treba tiež chemicky asanovať.

Asanácia sa robí máčaním v príslušnom roztoku alebo postrekom v dávke 0,5 – 1 liter na m^2, čím sa ošetrovaný predmet dokonale zmáča. Pri rýchlom vysychaní postreku na ošetrenom predmete (na slnku a vetre) treba postrek ešte raz zopakovať. Po asanácii sa ošetrené predmety, najmä po použití chlórnanu a hydroxidu sodného, umyjú teplou vodou.

Uzavreté priestory sa môžu asanovať Persterilom. Po zásahu sa ponechá asanovaný priestor 1 – 2 dni uzatvorený. Pred uskladnením zemiakov treba dodržať ochrannú lehotu 3 – 5 dní.

Pri asanácii treba dodržiavať príslušné hygienické a bezpečnostné opatrenia.

II. Asanácia horúcou vodou a parou

Asanácia horúcou vodou sa robí máčaním predmetov najmenej 30 minút pri teplote vody 65 °C alebo 15 minút pri teplote 80 °C.

Na aplikáciu pary sa používajú stabilné alebo prenosné vyvíjače pary. Teplota pary musí byť najmenej 80 °C a expozícia musí trvať najmenej 30 minút. Pri teplotách nad 100 °C možno expozíciu skrátiť až na 15 minút. Preparovaný materiál musí byť mierne vlhký.

Vrecia od zemiakov možno parou asanovať v stacionárnom dvojplášťovom dezinfektore vybavenom manometrom a teplomerom. Plášť je vyhrievaný parou. Vyhrievaný priestor je 2 m dlhý a 1 m široký. Vo vnútri tohto priestoru sú dva vozíky a rošty, na ktoré sa nakladajú vrecia balené po 20 kusov (19 vriec tvorí obsah 20. vreca) celkom voľne, aby došlo k rovnomernému prehriatiu. Po naplnení sa priestor uzavrie a otvorí sa prívod pary. Teplota pary v prípade rašlových vriec

nesmie prevýšiť 85 °C. Asanáciu treba vopred dohodnúť s podnikom vybaveným opísanými dezinfektormi.

III. Likvidácia kontaminovaného materiálu

Rastlinné zvyšky, obaly, zvyšky zeminy, zvyšky zo skladov a pod. zamorené alebo podozrivé zo zamorenia rakovinou alebo háďatkom možno

a) spáliť,

b) uložiť na odpadovú skládku alebo do vopred vykopanej jamy a zahrnúť najmenej 50 cm vysokou vrstvou zeminy; pre bezpečnejšiu likvidáciu je vhodné vopred materiál asanovať podľa bodu I alebo II alebo ho pred zahrnutím zeminou presypať chlórovým vápnom alebo vápenným hydrátom v množstve 5 kg na m^3.

Spôsob a miesto likvidácie musí byť v súlade s predpismi o odpadoch.

Príloha č. 11
k nariadeniu vlády č. 67/2004 Z. z.

NIČENIE RAKOVINY A HÁĎATKA NA ZAMORENÝCH POZEMKOCH

I. Organizácia

Ničenie rakoviny a háďatka organizuje a metodicky riadi fytoinšpektor. Spôsob a časový postup ničenia prerokuje s výrobcami, pri chemickej asanácii aj s obecným úradom.

Práce na zamorenom pozemku a prostriedky na ničenie (sadivo, osivo, chemikálie a pod.) zabezpečuje výrobca. Taktiež náklady spojené s ničením rakoviny alebo háďatka hradí výrobca. Uskutočnenie jednotlivých prác kontroluje fytoinšpektor.

II. Metódy ničenia háďatka

Výber metód a ich optimálna kombinácia závisí od miestnych podmienok (intenzita zamorenia pôdy, veľkosť pozemku, nebezpečenstvo ďalšieho šírenia škodcu, ekologická situácia, ekonomické možnosti výrobcu a pod.). Základom je asanácia pôdy pomocou chemických prípravkov a používanie rezistentných odrôd zemiakov. Ostatné metódy sú menej účinné a používajú sa ako doplnkové. Úplné ozdravenie pôdy je spravidla viacročná záležitosť a dá sa dosiahnuť len dôkladným a kvalitným uskutočnením všetkých zásahov.

1. Chemická asanácia pôdy

Chemická asanácia pôdy je spravidla nevyhnutná pri eradikácii (zničení) škodcu. Ak ide len o zníženie populačnej hustoty, je potrebná pri silnom a účelná pri strednom zamorení pôdy (príloha č. 5 bod IV).

Vykonáva sa na pozemkoch s výmerou do 0,33 ha, na väčších pozemkoch len v ohniskách výskytu. Na vytýčenie ohnísk sa využijú plániky pozemkov s vyznačenými pozitívnymi výsledkami rozboru pôdnych vzoriek alebo biologických testov alebo sa vykoná podrobný prieskum zamorenia celého pozemku (na hone sa vytýči a do plánika zakreslí štvorcová sieť s plochou jedného štvorca 0,33 ha, z každého štvorca sa odoberie priemerná vzorka zeminy podľa prílohy č. 3 a urobí sa jej rozbor – príloha č. 4 alebo 5, prípadne biologický test – príloha č. 2 bod I. 4).

Chemická asanácia sa nesmie vykonávať vo vnútornej časti 2. pásma hygienickej ochrany zdrojov podzemných vôd, a ak nie je rozdelené, nesmie sa v 2. pásme robiť vôbec. Aj mimo tohto pásma treba dbať o ochranu zdrojov spodných vôd a recipientov povrchových vôd. Pri aplikácii sa používajú predpísané ochranné prostriedky.

Účinnosť chemickej asanácie je cca 50 – 99,5 % v závislosti od použitého prípravku a jeho dávky, pôdnych a poveternostných podmienok, spôsobu a kvality aplikácie. Dôležitým predpokladom vysokej účinnosti je optimálny fyzikálny stav pôdy. Pôda nesmie byť suchá ani príliš vlhká a musí byť perfektne pripravená, bez hrúd a prekyprená do celej hĺbky ornice. Účinnosť sa dá zvýšiť opakovaním ošetrení (napr. na jar a po preoraní alebo orbe na jeseň) pri použití nižších dávok prípravkov.

Na chemickú asanáciu sa môžu používať len prípravky uvedené v Prehľade prípravkov na ochranu rastlín, mechanizačných prostriedkov na ochranu rastlín, ich výrobcov a držiteľov registrácie. Čím je pôda ťažšia, vyšší obsah organickej hmoty v nej a silnejšie zamorenie, tým vyššie dávky prípravkov treba použiť.

a) Pôdne fumiganty

Aplikujú sa do pôdy na jar alebo na jeseň pri minimálnej teplote pôdy 5 °C v hĺbke 10 cm, v prípade prípravku Basamid granulát 7 °C. Pri teplotách nad 26 °C môže dôjsť k zníženiu účinku rýchlym vyparením.

Pred aplikáciou a bezprostredne po nej sa nesmú do pôdy zapravovať rastlinné zvyšky, maštaľný hnoj, rašelina, dusíkaté vápno a čpavok, ktoré znižujú účinnosť zásahu.

S ošetrenou pôdou sa 3 týždne nehýbe. Potom sa hlboko prekyprí, aby zvyšky fumigantu z pôdy vyprchali. Po jarnej aplikácii treba dodržať ochrannú lehotu 5 a viac týždňov pred výsevom alebo výsadbou plodín. Vhodnosť pôdy na výsadbu sa určuje testom na inhibíciu klíčenia semien horčice. Spočíva v tom, že sa dve nádoby, najlepšie litrové poháre na zaváranie s viečkom, naplnia do 1/3 zeminou; jedna z ošetrenej, druhá z neošetrenej časti pozemku. Pôda sa prevlhčí vodou a nad jej povrch sa v gázovom vrecku upevnia naklíčené semená horčice a nádoba sa uzavrie viečkom. Ak dôjde v nádobe s ošetrenou zeminou k útlmu klíčenia semien, nie je pôda ešte vhodná na výsadbu. Tento test sa v týždňových intervaloch opakuje. Pôda je vhodná na výsadbu, ak semená nad ošetrenou aj neošetrenou pôdou klíčia rovnako intenzívne.

Granulovaný fumigant Basamid granulát sa sype (napr. pomocou sita, dávkovača a pod.) do brázd, pričom sa postupuje rovnako ako pri aplikácii kvapalných fumigantov, alebo sa rovnomerne aplikuje rozmetávadlom priemyselných hnojív alebo ručne pomocou sita na povrch pôdy a vhodným náradím (rotavátorom, kultivátorom, motykou a pod.) sa zapraví do pôdy do hĺbky 20 cm tak, aby sa granuly čo najlepšie s pôdou premiešali. Po aplikácii sa povrch pôdy urovná a mierne utlačí.

b) Močovina granulovaná

Vo vyšších dávkach (0,5 kg.m^{-2} a viac) ničí larvy a embryony háďatka v cystách, v nižších dávkach prevažne stimuluje larvy na liahnutie a tie v pôde bez prítomnosti hostiteľských rastlín hynú.

Aplikácia sa vykonáva na jar, spravidla v máji až júni, alebo na jeseň pri minimálnej teplote pôdy 10 °C v hĺbke 10 cm. Granuly sa rovnomerne rozhadzujú na povrch pôdy – na malých plochách ručne (s pomocou sita), na väčších rozmetávadlom priemyselných hnojív. Potom sa vhodným náradím zapravia do pôdy rovnako ako Basamid granulát. Povrch pôdy sa však neutláča. Pri dávkach vyšších ako 0,3 kg.m^{-2} sa takýmto spôsobom aplikuje len polovica celkovej dávky a druhá polovica sa po rozmetaní len plytko zapraví (bránami, hrabľami). Dávky 0,1 – 0,3 kg.m^{-2} sa aplikujú celé a plytko sa zapravujú do pôdy.

Po aplikácii zostáva pozemok ako úhor až do jesenného zaorania či zrýľovania. V nasledujúcom roku po jarnej asanácii dávkou 1 kg.m^{-2} a vyššou a po jesennej asanácii dávkou 0,5 kg.m^{-2} a vyššou sa pozemok kultivuje a udržuje sa ako čierny úhor.

2. Asanácia pôdy pomocou rezistentných odrôd zemiakov

Asanácia pôdy pomocou rezistentných odrôd zemiakov je založená na stimulácii liahnutia lariev háďatka z cýst koreňovými výlučkami odrôd, na ktorých nie je parazit schopný dosiahnuť plný vývoj, a tým sa znižuje (o 40 – 80 %) jeho populačná hustota v pôde.

Asanačné účinky rezistentných odrôd sú o to väčšie, o čo väčšmi ich korene prerastajú pôdu. Preto sa pestujú v riadkoch širokých 55 – 65 cm a v riadku vo vzdialenosti 18 – 20 cm. Na malých pozemkoch pri ručnej práci je vzdialenosť riadkov 40 – 50 cm. Pestovanie zmesí náchylných a rezistentných odrôd je zakázané.

Pri použití rezistentných odrôd sa zisťuje prípadný výskyt cýst na koreňoch rastlín (príloha č. 2 bod I. 1). Ak sa na koreňoch zistia cysty, odroda sa vyradí z ďalšieho pestovania na zamorenom

pozemku a fytoinšpektor preverí, či nejde o výskyt agresívneho patotypu (príloha č. 7). Úroda rezistentných odrôd zemiakov z pozemkov zamorených háďatkom sa nesmie použiť ako sadivo. Prehľad rezistentných odrôd sa každoročne publikuje v Listine registrovaných odrôd. Rezistentné odrody sa nesmú na zamorenom pozemku používať v intervale kratšom ako 6 rokov.

Rezistentné odrody zemiakov možno použiť aj ako tzv. lapaciu plodinu. Zemiaky sa vysádzajú v čo najhustejšom spone alebo sa rozmetajú (spravidla podsadivové hľuzy) husto a naširoko na pozemku a kultivátorom zapravia do pôdy. O 5 – 7 týždňov (pred tvorbou hľúz) sa porast zaorie a zaseje sa niektorá nehostiteľská plodina, napríklad kukurica. Pri tomto spôsobe odpadá kontrola cýst na koreňoch i povinnosť dodržať 4-ročný interval výsadby.

3. Asanácia pôdy pomocou iných stimulačne pôsobiacich plodín

Podobný, i keď slabší účinok ako rezistentné odrody zemiakov majú tieto plodiny: kukurica, strukoviny (najmä lupína – vlčí bôb), cukrová repa a kŕmna repa, cibuľoviny, ovos a ďatelinoviny.

4. Účinok stimulačne pôsobiacich plodín, najmä zemiakov, zosilňujú vysoké dávky organického hnojiva (40 $t.ha^{-1}$ a viac) a intenzívne obrábanie pôdy.

5. Predčasný zber

V zemiakárskej oblasti možno na zníženie populácie háďatka v pôde využiť predčasný zber zemiakov náchylných odrôd v čase tvorby prvých bielych cýst. Cysty sa zisťujú na koreňoch zemiakov rovnakých odrôd, ktoré sa vysádzajú súčasne s poľnou výsadbou do troch kvetináčov so zamorenou zeminou s intenzitou zamorenia minimálne 20 $cýst.100\ g^{-1}$. Kvetináče sa primerane zalievajú a udržujú v podmienkach čo najväčšmi simulujúcich poľné podmienky. Od začiatku júna sa v týždenných intervaloch kontroluje ich koreňový bal a zisťuje sa vývoj cýst. Pri zistení prvých (bielych) cýst (asi 7 týždňov po výsadbe) treba nevyhnutne začať so zberom zemiakov, lebo cysty v žltom štádiu sú už schopné v pôde dozrieť, a tým asanačný efekt znehodnotiť. Vňať zemiakov po predčasnom zbere treba z pozemku odstrániť alebo vytiahnuť a nechať na povrchu pôdy zaschnúť. Na malých pozemkoch sa vňať odstráni a zničí spálením.

III. Metódy ničenia rakoviny

Pre ničenie rakoviny platí všetko, čo je uvedené v bode II, s týmito odlišnosťami alebo poznámkami:

K bodu 1 – rok pred asanáciou sa na pozemku nesmú pestovať náchylné odrody zemiakov a ani iné hostiteľské rastliny,

– vyššie dávky močoviny ničia trvalé zoosporangiá, nižšie dávky stimulujú ich klíčenie,

K bodu 2 – rezistentné odrody stimulujú klíčenie trvalých zoosporangií a znižujú populačnú hustotu patogéna v pôde,

– pri použití rezistentných odrôd sa zisťuje prípadný výskyt nádorov na hľuzách, stolonoch a spodnej časti stonky (príloha č. 2 bod I. 1). Ak sa zistia nádory rakoviny, odroda sa vyradí z ďalšieho pestovania na pozemku a ďalej sa postupuje podľa prílohy č. 7 bodu I,

K bodu 3 – okrem uvedených plodín patria medzi stimulačne pôsobiace plodiny aj obilniny (pšenica, jačmeň), slnečnica, hlúbová zelenina a uhorky,

K bodu 5 – pre rakovinu neplatí.

IV. Overenie účinnosti ničenia rakoviny a háďatka

Účinnosť použitia jednotlivých metód ničenia a ich kombinácia sa overujú preskúšaním zamorenosti pozemkov podľa prílohy č. 13, a to najskôr mesiac po uskutočnení zásahu.

Ak je výsledok preskúšania pozitívny, treba v uplatňovaní metód ničenia pokračovať až do preskúšania s negatívnym výsledkom.

V. Evidencia

Záznam o ničení rakoviny alebo háďatka a jeho výsledkoch (s podrobným opisom všetkých vykonaných prác) potvrdený výrobcom a fytoinšpektorom sa založí do evidencie fytoinšpektora.

Upozornenie:

Pri všetkých prácach na zamorených pozemkoch treba dodržiavať stanovené rastlinolekárske opatrenia, najmä povinnosť čistiť, prípadne dezinfikovať použité prostriedky.

Príloha č. 12
k nariadeniu vlády č. 67/2004 Z. z.

ZABEZPEČOVANIE REZISTENTNÝCH ODRÔD ZEMIAKOV A TESTOVANIE REZISTENCIE

I. Zabezpečovanie rezistentných odrôd proti rakovine a háďatku

Prehľad rezistentných odrôd uvádza Listina registrovaných odrôd Slovenskej republiky.

Rezistencia dovážaných zahraničných odrôd voči rakovine a háďatku musí byť overená kontrolným ústavom.

Rezistenciu domáceho novošľachtenia a zahraničných odrôd prihlásených do štátnych odrodových skúšok testuje laboratórium kontrolného ústavu vo Vígľaši.

II. Štátne skúšky rezistencie krížencov a odrôd zemiakov voči rakovine a háďatku

1. Náplň a organizácia skúšok

Zisťuje sa rezistencia voči rakovine patotypu 1 a háďatku patotypu Ro 1.

Vzorky krížencov a odrôd na skúšky dodáva hlavná odrodová skúšobňa kontrolného ústavu v Spišskej Belej s touto dokumentáciou: číslo kríženca alebo názov odrody, šľachtiteľská stanica alebo krajina dovozu, skupina skorosti, úžitkový smer, údaje o rezistencii voči rakovine alebo háďatku alebo o náchylnosti uvedené na prihláške a podľa možnosti morfologický opis.

Kontrolný ústav v zázname o výsledkoch štátnych skúšok rezistencie úradne potvrdzuje príslušný stupeň rezistencie či náchylnosti skúšaných krížencov a odrôd. Laboratórium kontrolného ústavu zasiela záznam odrodovej skúšobni v Spišskej Belej.

2. Druhy skúšok a ich uskutočnenie

A. Rakovina zemiakov

a) Laboratórny krúžkový test (K-test)

Hľuzy sa inokulujú letnými zoosporangiami Synchytrium endobioticum z mladých rakovinových nádorov. Používajú sa hľuzy s prebudenými očkami a zdravými klíčkami, z ktorých aspoň niektoré musia byť najviac 2 mm dlhé. Klíčky dlhšie ako 5 – 10 mm sa odlamujú a vzniknuté poranenia sa ponechajú tri dni pri teplote 18 – 22 °C zahojiť alebo sa zakvapkajú rozohriatym parafínom.

Získavanie nádorov

Nádory na inokuláciu sa získavajú

– uchovávaním hľúz s nádormi z poľných skúšok vo vlhkom piesku pri teplote 10 –18 °C do zakladania laboratórnych skúšok;

– predpestovaním na náchylnom kríženci (odrode) v inokulačnom komposte alebo zamorenej zemine.

Inokulácia a inkubácia

Priestor okolo očka alebo niekoľkých očiek na umytej hľuze sa vodotesne ohraničí niekoľko milimetrov vysokým gumovým krúžkom pripevneným na suchú hľuzu rozohriatym parafínom alebo zmesou parafínu a bielej vazelíny (5 : 1) nanesenej štetcom. V krúžku nesmú byť skleróciá

Rhizoctonia solani. Ak sa vyskytnú, musia sa odlúpiť z povrchu hľuzy, zhnednuté klíčky odlomiť a miesto poranenia zakvapkať parafínom, alebo ak sú klíčky malé, celé zakvapnúť parafínom.

Do krúžkov ohraničeného priestoru sa vloží 1 – 2 ks čerstvých nádorov alebo ich úlomkov veľkosti 0,5 – 2 cm^3 poranenou plochou (miestom odlomenia) hore. Na nádory sa nakvapká odstáta voda tak, aby čo najväčšia časť bola ponorená, ale poranená plôška vyčnievala z vody.

Inokulované hľuzy sa označujú jednotlivo číslom vzorky. Na každých 10 – 30 vzoriek sa zaraďuje silne náchylná odroda (napr. HR 23/495) v rovnakom počte hľúz ako jednotlivé vzorky.

Doba inokulácie je 24 – 48 hodín. V polovici tejto doby sa odporúča nádory navzájom medzi hľuzami vymeniť. Po inokulácii sa nádory odstránia z krúžkov a priestor v krúžku sa vypláchne vodou.

Použitými nádormi sa ihneď inokulujú ďalšie hľuzy. Nádory možno použiť 1- až 3-krát po 24 hodinách alebo 1- až 2-krát po 48 hodinách. Nádory úplne alebo čiastočne zhnednuté, sčernené, alebo ak bola okolo nich voda zakalená, sa v ďalšej inokulácii nepoužívajú. Gumové krúžky možno použiť bez obmedzenia.

Počas inokulácie a nasledujúcej inkubácie sú hľuzy uložené v uzavretom priestore (chlebník s vrchnákom, prepravky prekryté fóliou a pod.) na obaloch na vajíčka z umelej hmoty s odrezanými dnami jamiek alebo s otvormi v nich.

Počas inkubácie sa hľuzy denne alebo každý druhý deň jemne orosia vodou a v priestore uloženia sa udržuje vysoká vzdušná vlhkosť (malou vrstvou vody na dne, rosením stien a vrchnáka), aby povrch inokulovaných klíčkov bol vlhký.

Teplota vody použitej na inokuláciu a teplota miestnosti pri inokulácii je 8 – 15 °C, teplota miestnosti pri inkubácii je 18 – 20 °C.

Hodnotenie napadnutia

Pri hodnotení sa používajú tieto stupne:

Stupeň (záznam) hodnotenia	**Príznaky**
0	žiadne príznaky infekcie
1	obranné nekrózy, žiadne sóry, žiadny náznak nádorotvornej reakcie, kličok normálneho vzrastu alebo deformovaný v dôsledku nekróz
2	obranné nekrózy a sóry; jednotlivé letné zoosporangiá alebo ich skupiny (i väčšie infekčné plochy) znekrotizované alebo obklopené znekrotizovanými bunkami; bez výskytu trvalých zoosporangií; bez náznaku alebo s náznakom nádorotvornej reakcie (radiálne hálky) s ob- rannými nekrózami; normálny rast alebo mierne zhrubnutie klička alebo jeho deformácia

	v dôsledku nekróz
3	obraz napadnutia podľa stupňa 1 alebo 2, ale s výskytom ojedinelých trvalých zoosporan- gií (maximálne 5 na klíčku) obklopených znekrotizovanými bunkami
4	obraz napadnutia podľa stupňov 1 alebo 2 s výskytom viac ako 5 trvalých zoosporangií na klíčku, rozmiestnených jednotlivo alebo v skupinách, ale vždy obklopených znekrotizova- nými bunkami
5	sóry, obranných nekróz menej alebo žiadne; jednotlivé letné alebo trvalé zoosporangiá alebo ich skupiny (i väčšie infekčné plochy) neizolované znekrotizovanými bunkami
6	sóry, obranných nekróz málo alebo žiadne; klíčok čiastočne alebo celý husto posiaty let- nými alebo trvalými zoosporangiami neizolovanými znekrotizovanými bunkami; kličok čiastočne alebo celý zhrubnutý; slabá nádorotvorná reakcia alebo typický rakovinový ná- dor

Bonituje sa o 20 – 25 dní po skončení inokulácie na základe makroskopickej prehliadky pomocou lupy. Prezerá sa povrch všetkých inokulovaných klíčkov pri zväčšení 1,5- až 10-krát. Hodnotí sa každá hľuza osobitne podľa klíčka, ktorého obraz napadnutia je z hľadiska rezistencie najmenej priaznivý. Pri zistení stupňov 0 a 6 je toto hodnotenie konečné.

Pri zistení iných príznakov sa stupeň napadnutia odhadne (napr. 1, 2 alebo 5) a o 30 – 35 dní po skončení inokulácie sa urobí druhá bonitácia na základe mikroskopického vyšetrenia povrchových pletív klíčka odlúpených alebo odrezaných tenkým rezom (skalpelom) z miest infekcie (miesta výskytu neskorých nekróz, sór, radiálnych hálok a pod.). Mikroskopuje sa pri zväčšení 80- až 120-krát. Ak sa zistí pri stupni napadnutia 6 typický nádor, poznačí sa aj jeho veľkosť ako pri hodnotení poľných skúšok [písm. c)], napríklad $6/R_2$.

Po skončení hodnotenia sa spracujú výsledky podľa tohoto vzoru:

Odroda (kríženec)	Hodnotených hľúz spolu	Z toho počet hľúz v stupni							Poznámka
		0	1	2	3	4	5	6	

b) Laboratórny trubičkový test (T-test)

Hľuzy sa inokulujú trvalými zoosporangiami Synchytrium endobioticum z inokulačného kompostu. Používajú sa hľuzy s prebudenými očkami, ktorých klíčky musia byť zdravé a neprerastené. Na inokulovanej časti hľuzy nesmú byť skleróciá Rhizoctonia solani.

Príprava inokulačného kompostu

Dozreté rakovinové nádory (vrátane rozpadnutých) z poľných alebo laboratórnych skúšok [získavanie nádorov – a)] sa rozdrobia a zmiešajú s ďalšími komponentmi v objemovom pomere 2 dielov listovky alebo rašeliny, 2 dielov nádorov a 1 dielu piesku. Zmes sa navlhčí a udržuje sa pri občasnom premiešaní v stredne vlhkom stave pri teplote 18 – 22 °C. Po 3 – 4 týždňoch sa do nej pridá 1 – 2 diely zamorenej zeminy; dobre premiešaná zmes sa nechá úplne vyschnúť a suchá sa uskladní. Pri veľkom objeme skúšok a príprave kompostu vo veľkom sa po rozpade nádorov vlhkosť zmesi zníži (premiešaním) a do začiatku skúšok sa kompost udržuje v mierne vlhkom stave.

Podiel zamorenej zeminy v komposte môže byť aj vyšší, a to na úkor piesku a rašeliny či listovky, ak je zemina ľahká a kyprá, alebo na úkor nádorov, ak je silne zamorená (pri použití tohto testu podľa prílohy č. 13 sa namiesto inokulačnej zmesi použije zemina odobratá z pozemku).

Inokulačný kompost použitý v minulej sezóne sa buď pridáva do novopripravenej zmesi, alebo sa po obohatení rozpadnutými nádormi použije na inokuláciu samostatne. Kompost z trubičiek alebo hrnčekov, ktorých hľuzy alebo výhonky zhnili, sa musí zničiť.

V prípade potreby sa inokulačná zmes prihnojí slabou dávkou minerálnych hnojív alebo dobre vyzretého hnoja.

Suchý alebo mierne vlhký inokulačný kompost sa 2 – 3 týždne pred inokuláciou aktivuje pridaním vody. Silne vlhký kompost sa potom vystavuje, ak je to možné, striedavo nízkej teplote (vrátane slabého mrazu) a vyššej teplote (izbovej). Tesne pred inokuláciou sa vlhkosť opäť zníži (častým miešaním pri izbovej teplote) a kompost sa spracuje do mierne vlhkého sypkého stavu.

Inokulácia a inkubácia

Na korunkovú časť hľuzy sa dvomi gumičkami pripevní kónická inokulačná trubička z umelej hmoty s priemerom 3 – 4 cm v hornej a 3,5 – 4,5 cm v dolnej časti, s dĺžkou cca 8 cm, na obvode dolného okraja so 4 – 8 tri až päť milimetrov hlbokými zárezmi tvaru U alebo V, v dolnej časti s úchytkami na gumičky a v hornej časti s úchytkami na zavesenie na drôty inokulačného regála.

Označenie vzoriek a zaradenie náchylných kontrolných hľúz je rovnaké ako pri K-teste.

Trubičky pripevnené k hľúzam sa naplnia inokulačným kompostom a zavesia sa jedna vedľa druhej na drôty napnuté v niekoľkých radoch v jednotlivých dieloch inokulačného regála. Kompost v trubičkách sa pomaly opakovane zalieva odstátou studenou vodou v takom množstve, až nadbytočná voda odkvapkáva zárezmi v dolnej časti trubičiek do podložených podnosov. Zálievka sa opakuje každý druhý až štvrtý deň v závislosti od rýchlosti vysychania kompostu. V prípade nízkej vlhkosti inokulačnej miestnosti sa hľuzy z vonkajšej strany striekajú vodou. Rýchle rastúce výhonky sa nad horným okrajom trubičiek odstrihávajú, aby sa stimuloval rast ďalších výhonkov.

Po 5 – 7 týždňoch sa palcom vytlačí inokulačný kompost i s rastlinou z trubičiek a kompost sa opatrne odstráni z klíčkov. Klíčky sa pritom nesmú odlomiť ani poškodiť. Hľuzy s inokulovanými klíčkami sa po umytí vodou inkubujú rovnakým spôsobom ako pri K-teste.

Inokulačný kompost možno použiť pri dobe inokulácie 4 – 5 týždňov 2-krát za sebou a pri dlhšej dobe inokulácie iba raz. Teplota miestnosti je pri inokulácii i inkubácii 18 – 20 °C.

Hodnotenie napadnutia

Bonituje sa 3 – 4 týždne po skončení inokulácie, a to rovnakým spôsobom ako v poľných skúškach [písm. c)].

Pri použití silne zamoreného kompostu a hľúz s klíčkami (aspoň niektorými) najviac 2 mm dlhými možno skrátiť dobu inokulácie na 10 dní až 3 týždne a bonitovať 2 – 3 týždne po skončení inokulácie rovnakým spôsobom ako v K-teste. Tento skrátený T-test môžo použiť ako náhradu K-testu napríklad pri nedostatku čerstvých nádorov.

Po skončení laboratórnych skúšok sa všetok materiál asanuje podľa prílohy č. 11. Asanované zemiaky zo skúšok sa odvezú na odpadovú skládku.

c) Poľné skúšky

Založenie a ošetrovanie pokusov

Pokusy sa zakladajú na silne zamorených skúšobných pozemkoch. Pozemok sa na jeseň pohnojí mašťaľným hnojom v dávke cca 40 $t.ha^{-1}$ (raz za 4 roky) a zorie sa alebo zryje. Na jar pred výsadbou sa podľa potreby pohnojí slabou až strednou dávkou bežne používaných priemyselných hnojív.

Sadí sa v období medzi 15. aprílom a 20. májom, každá vzorka v jednom alebo vo viacerých opakovaniach po 3 alebo 5 hľúz na rôznych miestach pozemku. Ku každému opakovaniu sa pridá 1 hľuza silne náchylnej kontrolnej odrody, a to s červenou šupkou k bielošupkovej vzorke a naopak. Opakovanie každej odrody nie je nutné na rovnomerne zamorených pozemkoch. Na udržanie silnej zamorenosti pozemku a na získanie infekčného materiálu na laboratórne skúšky sa vysádza aj potrebné množstvo silne náchylnej odrody alebo kríženca.

Hľuzy sa sadia ručne do vyoraných alebo vykopaných brázd hlbokých asi 10 cm, vzdialených od seba 55 – 60 cm, pri vzdialenosti hľúz v riadku 20 – 30 cm a vzdialenosti prvej hľuzy vzorky od poslednej hľuzy (kontrolnej) predchádzajúcej vzorky 30 – 40 cm. Vysádzané hľuzy sa vhodným náradím zahrnú. Vzorky sa na poli označujú menovkami s poradovými číslami a zhotoví sa zoznam, kde sa ku každému poradovému číslu poznačí názov príslušnej odrody a počet vysadených hľúz. Súčasne sa vyhotoví plánik pokusu.

Po výsadbe sa robia potrebné agrotechnické zásahy: bránenie a preorávky (naslepo a po vzídení) alebo ručné okopávanie a pletie, chemické ničenie burín a pásavky zemiakovej, prehŕňanie. Pri týchto prácach nesmie byť porušené označenie menovkami. Najmenej raz (v polovici júna až začiatkom júla) sa urobí kontrola porastu s cieľom odstrániť prímesi (vrátane hľúz). Pri tejto kontrole sa zaznamená aj prípadné napadnutie vzoriek rakovinou na listoch alebo stonke.

Zber a zhodnotenie pokusov

Zber sa robí v období medzi 20. augustom a 20. septembrom ručne motykou. Riadky sa môžu podorať vhodným náradím tak, aby neprišlo k pomiešaniu vzoriek. Z každého trsu sa prezerajú vňate, stolony a všetky hľuzy. Hodnotí sa každá rastlina osobitne podľa tejto schémy:

– ..... nedá sa hodnotiť pre zničenie rastliny,

0 ..... bez makroskopického napadnutia,

R_1 ..... nádory do veľkosti 0,5 cm,

R_2 ..... nádory veľkosti 0,5 – 2 cm,

R_3 ..... nádory veľkosti viac ako 2 cm.

Do úvahy sa berie najväčší nádor bez ohľadu na napadnutý orgán, počet a veľkosť ostatných nádorov a počet napadnutých hľúz. Ak sa zistia iba ojedinelé napadnuté hľuzy, treba posúdiť (podľa vzhľadu hľúz a farby dužiny), či nejde o prímes. Prímes sa z hodnotenia vylúči, podozrenie na prímes sa poznačí k výsledku hodnotenia. Celkom ojedinelé napadnutie sa uvedie aj k poznámke (napr. „iba 1 hľuza“ a pod.).

Hľuzy s nádormi a voľné nádory sa v každom opakovaní zhromažďujú na 1 kôpku v riadku. Po zbere sa nádory zoberú, rozdrobia alebo rozkrájajú, zmiešajú so zeminou a plošne rozhodia po pozemku, aby bol rovnomerne zamorený na uskutočnenie ďalších skúšok. Časť nádorov alebo hľúz s nádormi sa odoberie pre potreby laboratórnych testov.

Všetky hľuzy sa musia zo skúšobného pozemku odstrániť, aby sa zabránilo prímesiam v budúcich pokusoch. Zužitkovanie zozbieraných hľúz a všetko hospodárenie na zamorenom pozemku sa riadi platnými rastlinolekárskymi opatreniami.

Výsledky hodnotenia sa zapisujú podľa tohoto vzoru:

Okres: Kataster: Označenie pozemku:	Zber uskutočnil: Dátum výsadby: Dátum zberu:

Odroda (kríženec)	Hodnotených rastlín spolu	Z toho počet rastlín v stupni				Poznámka
		0	1	2	3	

d) Vyhodnotenie laboratórnych a poľných skúšok

Na základe výsledkov laboratórnych a poľných skúšok sa zaradí odroda alebo kríženec do zodpovedajúcej skupiny rezistencie alebo náchylnosti:

Skupina rezistencie (náchylnosti)	**Označenie stupňa rezistencie**	**Bonitácia**	
		K-test	**T-test a poľná skúška**
Rezistentná	9	stupeň 0-2, stupeň 3 najviac pri 10 % hľúz	0
Slabo rezistentná	7	stupeň 0-4	0
Slabo náchylná (s poľnou rezistenciou)	5	stupeň 5 alebo stupeň 6 bez nádorov	0
Stredne náchylná	3	stupeň 5 alebo stupeň 6	najmenej 50 % rastlín 0, ostatné rastliny R_1 R_2

			najviac v 5 % rastlín, bez výskytu R_3
Silne náchylná	1	stupeň 5 alebo stupeň 6	silnejšie napadnutie ako v predchádzajúcej skupine

Podmienkou na uznanie rezistencie (stupeň 9 a 7) je aspoň 60 % náchylnosť kontrolných rastlín pri všetkých druhoch skúšok alebo aspoň 60 % viditeľných infekcií (t. j. nie viac ako 40 % hľúz bonitovaných v stupni 0) v K-teste.

Podmienkou na uznanie slabšej náchylnosti (stupeň 5 a 3) je aspoň 60 % náchylnosť kontrolných rastlín v stupňoch R_2 alebo R_3.

Na potvrdenie stupňa rezistencie rozhodujúceho o povolení odrody treba testovať najmenej po 50 hľúz v T-teste alebo v poľnej skúške, pričom možno zarátať výsledky testovania vykonané špecializovanými laboratóriami počas šľachtenia pred prihlásením kríženca na štátne skúšky. Podiel výsledkov kontrolného ústavu však musí byť aspoň 60 %.

V prípade patotypu 1 sa testuje najmenej po 50 hľúz v T-teste alebo v poľnej skúške a pri dosiahnutí najmenej 50 % rastlín stupňa 0 ešte po 50 hľúz v K-teste.

B. Háďatko zemiakové

a) Laboratórny trubičkový test (T-test)

Korene rastlín zemiaka sú inokulované larvami Globodera rostochiensis (patotyp Ro 1), ktoré sa liahnu z cýst v zamorenom inokulačnom komposte. Používajú sa hľuzy s prebudenými očkami, najlepšie už dobre vyvinutými, neprerastenými, zdravými klíčkami. Na inokulovanej časti hľuzy nesmú byť skleróciá Rhizoctonia solani.

Príprava inokulačného kompostu

Pri použití tohto testu podľa príloh č. 2 a 13 sa namiesto inokulačného kompostu použije zemina odobratá z pozemku. Inokulačný kompost sa pripraví zmiešaním zamorenej zeminy, listovky alebo rašeliny a piesku, poprípade aj použitého kompostu z minulej sezóny (napr. 50 % zamorenej zeminy, 20 % listovky, 20 % použitého kompostu, 10 % piesku). Pomer jednotlivých zložiek sa volí tak, aby v komposte rastliny zemiaka dobre rástli a vytvárali hustý koreňový bal a aby kompost obsahoval aspoň 50 cýst háďatka so živým obsahom v 100 g.

Na inokuláciu možno použiť aj kompost použitý v minulej sezóne. Kompost z trubičiek, v ktorých hľuzy alebo výhonky zhnili, sa musí zlikvidovať.

Nedostatočne zamorený kompost treba obohatiť cystami vyplavenými zo zamorenej zeminy alebo zvýšiť jeho zamorenie pestovaním náchylných rastlín do dozretia nových cýst. V prípade potreby sa inokulačný kompost prihnojí slabou dávkou minerálnych hnojív alebo dobre vyzretého hnoja. Na inokuláciu sa používa kompost v mierne vlhkom sypkom stave.

Inokulácia a inkubácia

Inokulácia sa robí ako v T-teste s rakovinou [bod II. 2. A. b)] s niektorými odlišnosťami. Doba inokulácie trvá 8 – 10 týždňov. Potom sa inokulačný kompost i s rastlinou vytlačí z trubičiek a hodnotí sa napadnutie háďatkom. (Väčšina cýst je v tom čase žltej farby). Náchylná kontrolná rastlina sa zaraďuje v rovnakom počte hľúz ako skúšané vzorky.

Teplota miestnosti a závlahovej vody je 20 – 25 °C. Zavlažuje sa, najmä ku koncu doby inokulácie, miernejšie ako v prípade rakoviny.

Hodnotenie napadnutia

Po vytlačení inokulačného kompostu s rastlinou z trubičky sa na povrchu koreňového balu hľadajú pomocou lupy (zväčšenie 1,5- až 6-krát) a počítajú nové cysty háďatka. Ak je cýst viac ako 30, ich počet sa stanoví odhadom.

b) Skleníkový nádobový test (N-test)

Používajú sa kvetináče veľkosti 10 x 10 cm alebo ø 9 – 10 cm. Hľuzy sa sadia do nezamorenej kompostovej zeminy alebo do premytého piesku. Do vrecúška veľkého asi 1 x 2 cm, zhotoveného zo sitoviny s veľkosťou ôk 0,20 mm sa vyberie 30 neporušených cýst háďatka nie starších ako 2 roky. Vrecúško sa uzavrie a položí na korunkovú časť hľuzy. Hľuza sa potom zasype 2 – 3 cm zeminy či piesku. Ošetrovanie počas vegetácie a zaradenie náchylnej kontroly je rovnaké ako v T-teste.

Zisťovanie počtu živých embryonov a lariev v cystách

Zisťuje sa z 30 – 50 náhodne vybraných cýst vyplavených zo zamorenej zeminy alebo inokulačného kompostu a používaných v inokulácii spôsobom opísaným v prílohe č. 5 bode IV. Z počtu lariev v 5 kvapkách objemu suspenzie a počtu kvapiek z 1 ml suspenzie pre použitú pipetu (zistí sa vopred) sa vypočíta celkový počet lariev a embryonov z rozdrvených 30 – 50 cýst a priemerný počet na 1 cystu.

Hodnotenie testu

Po 12 týždňoch rastu v kvetináči sa odreže vňať rastliny zemiaka a obsah kvetináča sa nechá prirodzenou cestou úplne uschnúť. Z obsahu kvetináča sa potom flotačnou metódou vyplavia a spočítajú všetky cysty. Z náhodne vybraných 30 – 50 cýst (i z vrecúška) alebo pri menšom počte sa zo všetkých získaných cýst opäť zistí počet živých lariev a embryonov.

Pomer konečnej populačnej hustoty (P_f) k počiatočnej populačnej hustote (P_i) vyjadrený priemerným počtom živých embryonov a lariev na 1 rastlinu je mierou asanačného efektu kríženca alebo odrody. Na hodnotenie miery asanačného efektu slúži najvyššia dosiahnutá hodnota. Čím menší je tento podiel, tým vyšší je asanačný efekt.

c) Vyhodnotenie skúšok rezistencie

Podľa celkových výsledkov skúšok sa kríženec alebo odroda zaradí do zodpovedajúcej skupiny rezistencie alebo náchylnosti:

Skupina rezistencie (náchylnosti)	**Označenie stupňa rezistencie**	**Bonitácia**		
		počet cýst na koreňovom bale 1 rastliny	**priemerný počet cýst vyplavených z 1 kvetináča**	**P_f : P_i**
rezistentná	9	0 - 5	35	0 - 0,4
slabo rezistentná	7	< 15	36 - 45	≤ 1,0
slabo náchylná	5	detto	detto	1,0
stredne náchylná	3	16 - 30	46 - 60	-

silne náchylná	1	> 30	> 60	-

Po vyhodnotení skúšky sa rastlinné zvyšky spália alebo asanujú spolu s kvetináčmi a zvyškami zeminy podľa prílohy č. 11.

Podmienkou na uznanie stupňov rezistencie 9 – 3 je aspoň 60 % napadnutie kontrolných rastlín s viac ako 50 cystami na koreňovom bale a otestovanie najmenej 15 rastlín každého kríženca alebo odrody v 1- až 2-ročných skúškach, z toho najmenej 5 rastlín N-testom. Možno započítať aj výsledky skúšok vykonaných v špecializovaných laboratóriách počas šľachtenia pred prihlásením kríženca na štátne skúšky s tým, že podiel výsledkov kontrolného ústavu musí tvoriť najmenej 60 %.

C. Spoločný test rezistencie proti rakovine a háďatku

Hľuzy sa inokulujú kompostom obsahujúcim zoosporangiá Synchytrium endobioticum a cysty Globodera rostochiensis. Skúšky sa robia ako T-test s dobou inokulácie 9 – 11 týždňov. Teplota miestnosti a závlahovej vody je 18 – 22 °C, intenzita závlahy je ako v teste s rakovinou.

Bonituje sa pri zbere tak, že sa najprv hodnotí napadnutie háďatkom na koreňovom bale a po odstránení inokulačného kompostu z rastlín a umytí rastlín vo vode napadnutie rakovinou.

Príloha č. 13
k nariadeniu vlády č. 67/2004 Z. z.

PRESKÚŠAVANIE ZAMORENOSTI POZEMKOV RAKOVINOU A HÁĎATKOM

Preskúšavanie zamorenosti pozemkov sa organizuje a plánuje podobne ako prieskum (metodika č. 2 časť II) a vykonáva ho fytoinšpektor najskôr po 5 rokoch na žiadosť obhospodarovateľov pozemkov po uplatnení metód priameho ničenia rakoviny alebo háďatka alebo najskôr po 10 rokoch od posledného zistenia ich výskytu.

I. Postup preskúšavania:

1. odber pôdnych vzoriek,

2. rozbor pôdnych vzoriek na výskyt háďatka a rakoviny,

3. biologický test s pôdnymi vzorkami na výskyt rakoviny

alebo v prípade rakoviny

1. odber pôdnych vzoriek,

2. biologický test s pôdnymi vzorkami,

3. nový odber pôdnych vzoriek po skyprení alebo preoraní pozemku alebo jeho časti, z ktorej sa vzorky odoberajú,

4. biologický test s pôdnymi vzorkami.

Ak sa v ktorejkoľvek etape preskúšavania zistí výskyt rakoviny alebo háďatka, považuje sa pozemok naďalej za zamorený a v preskúšavaní sa nepokračuje.

II. Vykonanie preskúšania

Odber pôdnych vzoriek podľa prílohy č. 3.

Rozbor pôdnych vzoriek na výskyt háďatka podľa prílohy č. 5.

Biologický test s pôdnymi vzorkami

Vykonáva sa ako T-test podľa prílohy č. 12 bodu II. 2. A. b), bodu II. 2. B. a) alebo bodu II. 2. C.

Na testovanie sa používa náchylný kríženec HR 23/495 v počte 15 hľúz na vzorku zeminy v prípade háďatka a 35 hľúz na vzorku zeminy v prípade rakoviny a spoločného testu na rakovinu a háďatko.

Skúška na rakovinu sa robí dvojfázovo: po zbere 1. série 20 hľúz sa zeminou uvoľnenou z hodnotených rastlín ihneď inokuluje 2. séria 15 hľúz. Doba inokulácie je v oboch sériách najmenej 5 týždňov.

Počet hľúz testovaného kríženca možno podstatne znížiť použitím úsporného testu.

Úsporný test na háďatko

1. Dve tretiny zeminy potrebnej na inokuláciu15 hľúz v T-teste sa rozdelia na dve časti, ktoré sa samostatne preplavia flotačnou metódou podľa prílohy č. 5 bodu II. 1 – 3 s tým, že sa zemina

nepreosieva, iba sa z nej odstránia väčšie pevné častice. Jedna náplň Erlenmayerovej banky môže tvoriť až 300 g zeminy.

2. Vyplavený detrit zo sita 0,2 mm sa rovnomerne zmieša so zostávajúcou tretinou zeminy (napr. spláchnutím laboratórnou striekačkou zo sita a dôkladným premiešaním).

3. Zeminou takto obohatenou o cysty háďatka (ak sú prítomné) sa inokuluje namiesto 15 hľúz iba 5 hľúz testovaného kríženca.

Úsporný test na rakovinu

1. Množstvo zeminy potrebnej na inokuláciu 20 hľúz v T-teste a zbavené väčších pevných častíc sa podrobí pracovnému postupu podľa prílohy č. 5 bodu II. 3 – 5 s tým, že sa zemina rozdelí do 2 – 3 Erlenmayerových baniek a vodná suspenzia z každej z nich sa preleje sitom s veľkosťou ôk 1 – 2 mm (väčší priemer ôk pri vyššom podiele jemných pôdnych častíc) do samostatného vedra, v ktorom sa nechá vo vodnom stĺpci vysokom 20 cm sedimentovať 30 minút.

2. Po odsatí suspenzie do výšky 3 – 5 cm od dna (podľa množstva usadeniny) sa do vedra prudko prileje voda, suspenzia sa nechá 20 minút sedimentovať a znovu sa odsaje do výšky 3 – 5 cm od dna. Tento postup sa pri vyššom podiele veľmi jemných častíc ešte raz zopakuje.

3. Usadeniny z dna vedra sa spláchnutím vodou prenesú do misky alebo inej vhodnej nádoby a nechajú sa pri izbovej teplote vyschnúť (nadbytočná voda sa podľa potreby odsaje). Ak sa spracovávala doteraz vlhká zemina z čerstvo odobratej vzorky, môže sa inokulovať hneď po dosiahnutí mierne vlhkého stavu sedimentu. V ostatných prípadoch treba sediment udržiavať aspoň 2 týždne pred inokuláciou v mierne vlhkom stave.

4. Takto pripraveným sedimentom sa dvojfázovo inokuluje namiesto 35 len taký počet hľúz testovaného kríženca, ktorý zodpovedá množstvu získaného sedimentu.

Spoločný úsporný test na rakovinu a háďatko

Postupuje sa rovnako ako pri úspornom teste na rakovinu s tým, že testovaná vzorka zeminy musí byť suchá. Po 15 minútach prvej sedimentácie (bod 1) sa zoberie (napr. lyžicou) detrit (s cystami háďatka) plávajúci na hladine suspenzie a pred inokuláciou sa zmieša so získaným sedimentom. Test je jednorazový s dobou inokulácie 9 – 11 týždňov.

III. Evidencia výsledkov preskúšavania

Výsledky preskúšavania vedie kontrolný ústav.

Príloha č. 14
k nariadeniu vlády č. 67/2004 Z. z.

ZMENA A ZRUŠENIE KARANTÉNY PRE RAKOVINU A HÁĎATKO

I. Zmena karantény

1. Zmena vymedzenia zamorených pozemkov alebo ohrozeného územia a dosiaľ platných rastlinolekárskych opatrení sa vykoná po zistení zmien vo výskyte rakoviny alebo háďatka, najmä po vykonaní preskúšavania zamorenosti pozemkov a detailného prieskumu alebo pri podstatnej zmene podmienok ovplyvňujúcich možnosti ich šírenia.

2. Zmenu navrhuje kontrolný ústav na základe zhodnotenia výskytu rakoviny alebo háďatka, rozsahu a výsledkov preskúšavania a prieskumu zamorenosti pozemkov, ničenia rakoviny alebo háďatka, overovaní agresívnych patotypov, dodržiavania karantény, zmien výrobcov a spôsobu ich hospodárenia a iných zmien vo vzťahu k možnosti šírenia rakoviny alebo háďatka.

3. Kontrolný ústav navrhne zmenu vyhlásenia karantény podľa osobitného predpisu[1]).

Návrh obsahuje

a) výsledky skúmania podľa bodu 2,

b) návrh nového vymedzenia zamorených pozemkov a ohrozeného územia: zamorený pozemok možno v osobitných prípadoch vymedziť samostatne, prípadne s jeho najbližším okolím, ale musí byť pritom preukázané (preskúšavaním zamorených pozemkov a detailným prieskumom), že v uvoľnenej časti územia nie sú pozemky zamorené a že za daných podmienok (terénna izolácia, spôsob hospodárenia, dodržiavanie karantény a pod.) je v podstate vylúčený prenos zárodkov rakoviny alebo háďatka zo zamoreného pozemku do uvoľneného územia; v oblastiach s veľkou hustotou zamorených pozemkov a medzi nimi roztrúsenými nezamorenými pozemkami treba posúdiť eventuálnu účelnosť vymedzenia viacerých katastrov do ohrozeného územia,

c) návrh nových rastlinolekárskych opatrení.

4. Podľa bodu 3 písm. b) vypracuje fytoinšpektor nový situačný plánik zamorených pozemkov a ohrozeného územia.

II. Zrušenie karantény

A. Háďatko

Po preskúšaní zamorenosti pozemkov s negatívnym výsledkom vykoná fytoinšpektor na zamorených pozemkoch a v ohrozenom území detailný prieskum (príloha č. 2 bod II. 3), ktorý možno vykonať najskôr po uplynutí 10 rokov od posledného zistenia výskytu.

Ak je výsledok detailného prieskumu negatívny, kontrolný ústav navrhne zrušenie karantény podľa osobitného predpisu.[1])

B. Rakovina

Na pozemku, ktorý bol zamorený rakovinou a bol pod dohľadom kontrolného ústavu, možno zrušiť karanténu v závislosti od času, ktorý uplynul od posledného zistenia rakoviny a od výsledkov pôdnych testov. Pre veľmi dlhé obdobie životnosti sporangií rakoviny v pôde nemožno bez testovania pôdnych vzoriek uvoľniť pozemky z karantény len na základe uplynutia určitého počtu rokov. Počas obdobia karantény by mal byť pozemok obrábaný, nestačí iba zatrávnenie.

1. Zrušenie karantény

Na pozemku, ktorý bol v minulosti zamorený rakovinou, možno zrušiť karanténu najskôr po uplynutí 10 rokov od posledného zistenia infekcie za predpokladu, že z pozemku boli odobraté 3 vzorky pôdy na 1 ha (každú vzorku tvorí 60 čiastkových vzoriek do hĺbky 20 cm) testované podľa prílohy č. 4 bez výskytu živých sporangií a bez potvrdenia infekcie biologickým trubičkovým testom podľa prílohy č. 13 bodu II.

Ak možno presne určiť polohu infikovaných ohnísk na pozemku, z týchto ohnísk sa odoberajú vzorky osobitne a aj ich testovanie sa vykonáva oddelene od ostatných vzoriek.

K zrušeniu karantény môže dôjsť vtedy, ak

a) vo všetkých vzorkách pôdnych suspenzií testovaných pod mikroskopom podľa prílohy č. 4 nie sú žiadne životaschopné sporangiá a zároveň nie je žiadna infekcia v biologických testoch podľa prílohy č. 13 bodu II,

alebo

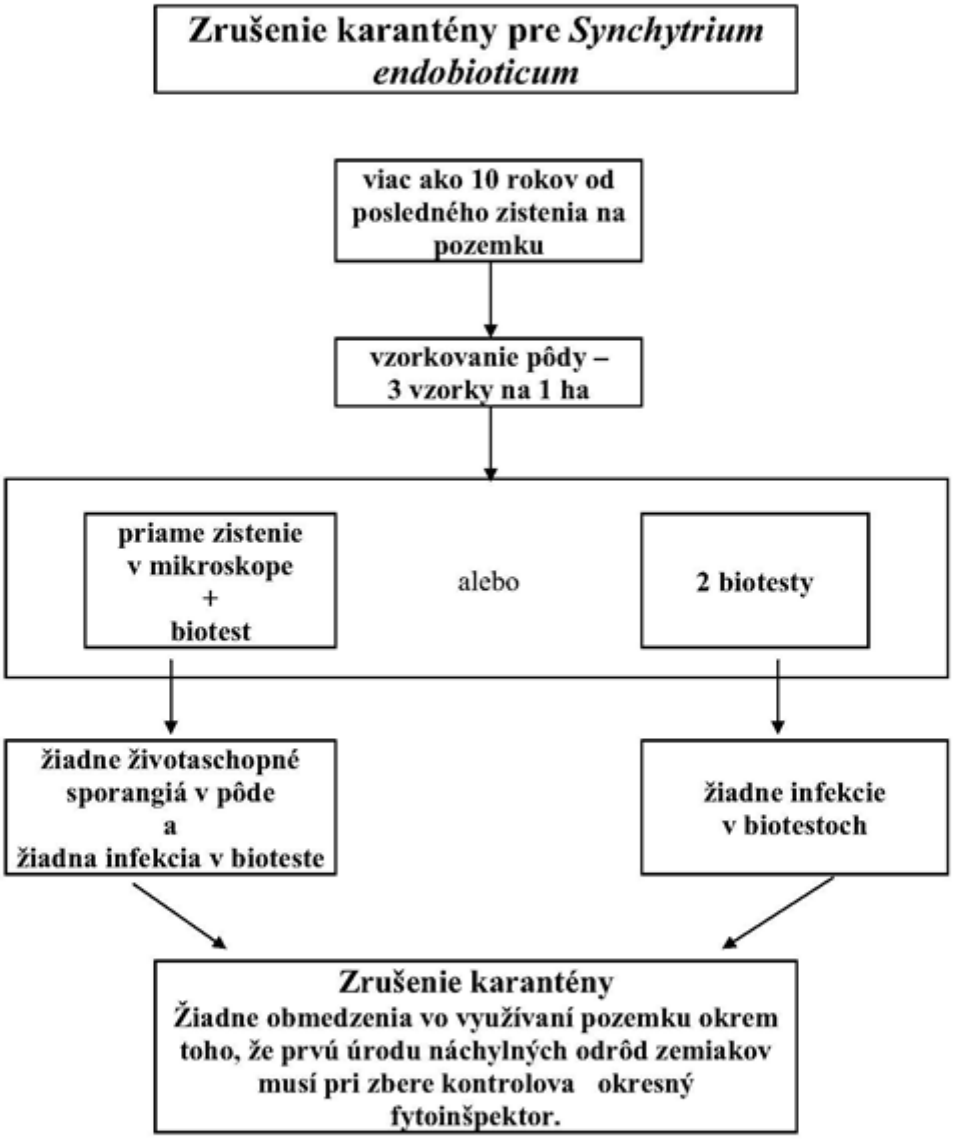
b) vo všetkých vzorkách testovaných na zamorenie dvoma postupnými biologickými testmi podľa prílohy č. 13 bodu II nie je žiadna infekcia. Pôdne vzorky na 2 biologické testy sa odoberajú postupne s určitým časovým odstupom, počas ktorého sa vykoná kultivácia pôdy (napr. orba, rotavátorovanie).

Negatívny výsledok testovania pôdnych suspenzií nie je dostatočné kritérium na zrušenie karantény. Po tomto teste nasleduje biologický test. Ak sú v pôdnych suspenziách pozorované živé sporangiá rakoviny, celkový výsledok je pozitívny a netreba vykonať biologický test.

Vo všetkých biologických testoch je dôležité zahrnúť negatívne kontroly zdravých rastlín a pozitívne kontroly z infikovanej vzorky.

V prípade pozitívneho výsledku pôdnych suspenzií alebo biologického testu ďalšie odbery vzoriek a ich testovanie nasledujú najskôr po 3 rokoch.

V prípade negatívneho výsledku testovania všetkých vzoriek kontrolný ústav navrhne zrušenie karantény podľa osobitného predpisu.[1]) Po zrušení karantény nie sú žiadne obmedzenia vo využívaní pozemku okrem toho, že prvú úrodu náchylných odrôd zemiakov musí pri zbere kontrolovať okresný fytoinšpektor na akúkoľvek infekciu.


Zrušenie karantény pre *Synchytrium endobioticum*
viac ako 10 rokov od posledného zistenia na pozemku
vzorkovanie pôdy – 3 vzorky na 1 ha
priame zistenie v mikroskope + biotest
alebo
2 biotesty
žiadne životaschopné sporangiá v pôde a žiadna infekcia v bioteste
žiadne infekcie v biotestoch
Zrušenie karantény
Žiadne obmedzenia vo využívaní pozemku okrem toho, že prvú úrodu náchylných odrôd zemiakov musí pri zbere kontrolova okresný fytoinšpektor.

Príloha č. 15
k nariadeniu vlády č. 67/2004 Z. z.

TÝMTO NARIADENÍM SA TRANSPONUJÚ PRÁVNE AKTY EURÓPSKYCH SPOLOČENSTIEV

1. Smernica Rady č. 69/464/EHS o kontrole rakoviny zemiaka,

2. Smernica Rady č. 69/465/EHS o kontrole háďatka zemiakového.

Preklad týchto smerníc sa nachádza v Centrálnej prekladateľskej jednotke sekcie Inštitút pre aproximáciu práva Úradu vlády Slovenskej republiky, Námestie slobody 1/29, Bratislava.

1) § 2 písm. q) zákona Národnej rady Slovenskej republiky č. 285/1995 Z. z. o rastlinolekárskej starostlivosti v znení neskorších predpisov.

2) § 5 ods. 4 písm. d) a § 23 ods. 1 zákona č. 285/1995 Z. z. v znení neskorších predpisov.

3) § 2 ods.1 písm. e) nariadenia vlády Slovenskej republiky č. 75/2004 Z. z. o ochranných opatreniach proti zavlečeniu a rozširovaniu organizmov škodlivých pre rastliny alebo rastlinné produkty.

4) § 5 ods. 4 zákona Národnej rady Slovenskej republiky č. 285/1995 Z. z. v znení neskorších predpisov.

5) § 5 ods. 3 písm. f) zákona Národnej rady Slovenskej republiky č. 285/1995 Z. z. v znení neskorších predpisov.

6) Nariadenie vlády Slovenskej republiky č. 69/2004 Z. z., ktorým sa ustanovujú podmienky na dovoz a premiestňovanie určitých škodlivých organizmov, rastlín, rastlinných produktov a iných predmetov na vedecké, výskumné alebo šľachtiteľské účely.

1) § 5 ods. 4 písm. d) a § 23 ods. 1 zákona č. 285/1995 Z. z. o rastlinolekárskej starostlivosti.

Vydavateľ Zbierky zákonov Slovenskej republiky, správca obsahu a prevádzkovateľ právneho a informačného portálu Slov-Lex dostupného na webovom sídle www.slov-lex.sk je
Ministerstvo spravodlivosti Slovenskej republiky, Župné námestie 13, 813 11 Bratislava,
tel.: 02 888 91 137, fax: 02/52442853, e-mail: helpdesk@slov-lex.sk.