Tarım ve Orman Bakanlığından :

**PATATES SİĞİL HASTALIĞI ETMENİNİN ERADİKASYONU VE YAYILMASININ ÖNLENMESİ İÇİN ALINACAK TEDBİRLER HAKKINDA YÖNETMELİK**

**BİRİNCİ BÖLÜM**

**Başlangıç Hükümleri**

**Amaç ve kapsam**

**MADDE 1-** (1)Bu Yönetmelik, patates siğili etmeni olan *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival’in yeri ve yayılış alanlarının tespiti, mücadelesi ve yayılmasını engellemeye ilişkin usul ve esasları düzenlemektedir.

(2) Bu Yönetmelik, patates üretimini engelleyen Patates siğil hastalığı etmeni *Synchytrium endobioticum*’un teşhis ve tanısı, sürveyi, patotiplerinin belirlenmesi, eradikasyonu ve mücadele tedbirlerine ilişkin esas ve usulleri kapsar.

**Dayanak**

**MADDE 2-** (1)Bu Yönetmelik, 11/6/2010 tarihli ve 5996 sayılı Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanununun 15 inci maddesine dayanılarak hazırlanmıştır.

**Tanımlar**

**MADDE 3**-(1) Bu Yönetmelikte geçen;

1. Araştırma Enstitüsü: Bakanlığa bağlı zirai mücadele araştırma faaliyetlerini yürüten enstitülerini,
2. Bakanlık: Tarım ve Orman Bakanlığını,
3. Dayanıklı patates çeşidi: *Synchytrium endobioticum*’un belirli bir patotipine/patotiplerine kontaminasyonuna maruz kaldığında, hiçbir dinlenme sporu üretmeyecek şekilde tepki veren patates çeşidini,

ç) Genel Müdürlük: Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğünü,

d) KASK sistemi: İl ve ilçe tarım ve orman müdürlükleri tarafından karantinaya tabi zararlı organizmalarda yürütülen sürvey çalışmalarının ve bulaşık alan bilgilerinin kayıt altına alındığı Tarım Bilgi Sisteminde yer alan karantinaya tabi zararlı organizma sürveyi kayıt sistemini,

e) Konukçu bitki: Tohumları dışındaki *Solanum tuberosum* L. bitkilerini,

1. Laboratuvar: Bakanlığa bağlı zirai mücadele araştırma faaliyetlerini yürüten enstitü ve zirai karantina müdürlüklerinin laboratuvarları ile bakanlıkça yetkilendirilmiş laboratuvarları,

g) Müdürlük: İl ve ilçe tarım ve orman müdürlüklerini,

ğ) Sürvey: Bir alanda hangi türlerin var olduğunu ya da zararlı organizma popülasyonunun özelliklerini belirlemek için belirli bir süre boyunca yürütülen resmi prosedürü,

h) Zararlı organizma: Patates siğili hastalığına neden olan *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival’ı

ifade eder.

**İKİNCİ BÖLÜM**

**Bulaşık Alanların Tespiti ve Alınacak Tedbirler**

**Sürveyler ve laboratuvar testleri**

**MADDE 4-** (1) Müdürlük, patates bitkilerinin yetiştirildiği veya depolandığı alanlarda konukçu bitkinin yumru, kökboğazı ve stolonlarında, görsel muayene yoluyla yıllık risk esaslı sürveyler yapar.

(2) Müdürlükler, patates bitkilerinin zararlı organizma ile bulaşık olduğundan şüphelenilmesi durumunda, zararlı organizmanın belirlenmesi için örnekler alır ve ilgili laboratuvar tarafından EK-1'de belirtilen yöntemler kullanılarak örnekler test edilir.

(3) Müdürlükler, bir önceki yılda gerçekleştirilen yıllık sürveylerin sonuçlarını her yıl 31 Aralık’a kadar Ek-2’de yer alan formata uygun olarak Genel Müdürlüğe bildirir ve KASK sistemine veri girişlerini yapar.

**Bulaşık üretim yerleri ve bulaşık patates bitkilerinin belirlenmesi**

**MADDE 5**- (1) Müdürlük, testler ile zararlı organizmanın varlığının resmi olarak doğrulandığı üretim yerlerini, zararlı organizma ile bulaşık olarak belirler.

(2) Zararlı organizmayla bulaşık olduğu belirlenen üretim yerinde yetiştirilen veya zararlı organizmanın bulunduğu toprakla teması olan patates bitkileri, resmi olarak bulaşık kabul edilir.

**Sınırlandırılmış alanların oluşturulması**

**MADDE 6-** (1) Zararlı organizmanın varlığının resmi olarak doğrulanması durumunda, müdürlük gecikmeden bu maddenin ikinci fıkrasına göre sınırlandırılmış alanı belirler. Laboratuvarlar, EK-1'in 5 inci maddesinde belirtilen yöntemleri kullanarak patotipi belirler.

(2) Sınırlandırılmış alan aşağıdakilerden oluşur:

 a) Bulaşık alan, en azından zararlı organizmayla bulaşık olduğu belirlenmiş üretim yerini kapsar.

(b) Güvenlik kuşağı (=tampon bölge); bulaşık alanı çevreleyen temiz bölge

 b) Güvenlik kuşağı, bulaşık alanı çevreleyen tampon bölgeyi kapsar. Güvenlik kuşağının sınırlandırılması, zararlı organizmanın dinlenme sporlarının yayılma riskinin yanı sıra zararlının biyolojisine, bulaşıklık düzeyine, alanda patates bitkilerinin ekim sıklığı ve dağılımına, ilgili çevresel ve coğrafi koşulları da kapsayan bilimsel esaslara dayanan Bakanlık talimatı doğrultusunda yapılır.

(3) İlgili müdürlük, bulaşıklığın kaynağını belirlemek için gerekli araştırmaları yapar. Sınırlandırılmış alanın oluşturulmasından önce taşınmış olanlar dahil, bu alanla bağlantılı patates bitkilerini izler.

**Eradikasyon tedbirleri**

**MADDE 7-** (1) Müdürlük, bulaşık alandan gelen patates yumru, bitki ve bitki artıklarını, zararlının daha fazla yayılmasını önlemek için güvenli koşullar altında imha eder veya işlenmesini sağlar. Hastalık bulaşmış patateslerin çıkış yerinin belirlenmesi mümkün değilse, hastalıklı yumruların bulunduğu tüm parti, zararlının daha fazla yayılmasını önleyen koşullar altında imha edilir veya işlenir. İşleme, zararlı organizmanın yayılması için tanımlanabilir risk teşkil etmediği belirlenmiş olan, resmi olarak onaylanmış atık tesisleri bulunan ve çıkış yapan araçların temizlenmesi ile dezenfeksiyonu için bir sistemi olan endüstriyel işleme tesislerinde ivedilikle doğrudan yapılır.

(2) Müdürlük, bulaşık alanda aşağıdaki tedbirlerin tümünü alır:

a) Patates ekilmez, yetiştirilmez veya depolanmaz.

b) Bulaşık olarak belirlenen alanda, üretim materyali olarak kullanılmak üzere hiçbir bitki (fide, fidan vb. gibi her çeşit üretim materyali) üretilemez veya depolanamaz.

c) (a) ve (b) bentlerinde belirtilenler dışındaki (bulaşık alanda yetiştirilen ancak konukçu olmayan) bitkiler, üzerlerinde bulunan bulaşık toprak aracılığı ile *Synchytrium endobioticum*’u yayma konusunda tanımlanabilir bir risk oluşturacağından, bulaşık alandan güvenlik kuşağına taşınmadan veya sınırlandırılmış alan dışına çıkarılmadan önce veya hemen sonrasında, uygun yöntemlerle bu topraktan temizlenir.

ç) Makineler ve ekipmanlar, bulaşık alandan çıkarılmadan önce veya çıkarıldıktan hemen sonra ve güvenlik kuşağının içinde veya sınırlandırılmış alanın dışında bulunan herhangi bir üretim sahasına taşınmadan önce toprak ve bitki kalıntılarından temizlenir.

d) Bulaşık bir alan kaynaklı herhangi bir toprak veya artık, yalnızca zararlının tanımlanabilir bir yayılma riskinin bulunmadığını garanti eden koşullar altında o bölgenin dışına taşınabilir ve kullanılabilir veya biriktirilebilir.

(3) Bu maddenin ikinci fıkrasının (a) ve (b) bentlerinde belirtilenler dışında, topraktan arındırılmamış bitkiler, ancak aşağıdaki iki koşulun yerine getirilmesi halinde, sınırlandırılmış alan dışına çıkarılabilir:

a) Zararlı organizmayı yayma konusunda tanımlanabilir bir risk olmamasını sağlamak amacıyla uygun yöntemlerle bu bitkilerden toprağı arındırmak için taşınır.

b) Toprağın nakli ve taşınması resmi gözetim altında gerçekleşir ve zararlı organizmanın yayılmasını etkili bir şekilde önlemek için uygun tedbirler alınır.

(4) Müdürlük güvenlik kuşağında aşağıdakileri tedbirleri alır :

a) Güvenlik kuşağında, sınırlandırılmış alanın dışında yeniden dikilmesi amaçlanan hiçbir bitki yetiştirilmez.

b) Güvenlik kuşağında, patates yetiştirilecekse bulaşık alanda bulunan zararlı organizmanın belirlenen patotip(ler)ine veya 8 inci maddede belirtilen ve ülkede varlığı bilinen tüm patotiplere dayanıklı olan bir çeşit yetiştirilir.

c) Güvenlik kuşağı menşeli herhangi bir toprak veya bitki artığı, yalnızca zararlıyı yaymak için tanımlanabilir bir riskin olmadığının ortaya konulduğu koşullar altında; sınırlandırılmış bölgenin dışına taşınabilir ve bu bölge dışında kullanılabilir veya depolanabilir.

**Zararlı organizmanın** **patotiplerine dayanıklı patates çeşitleri**

**MADDE 8**- (1) Bir patates çeşidi, zararlı organizmanın belirli bir patotipi ile kontaminasyona maruz kaldığında, hiçbir dinlenme sporu üretmeyecek şekilde tepki verdiğinde o patotipe dayanıklı olduğu belirlenir.

(2) Dayanıklılık belirleme testi, EK-3' te belirtilen protokole uygun olarak yapılır. Patates çeşitlerinin dayanıklılık derecesi, EK-3' teki tabloda belirtilen standart dayanıklılık skala değerlerine göre belirlenir.

(3) Araştırma enstitüleri, her yıl 31 Ocak'a kadar, önceki yıl boyunca tescillenen çeşitlerin ve EK-5'te atıfta bulunulan resmi testlerle zararlı organizmaya karşı dayanıklı olduğu belirlenen tüm yeni patates çeşitlerinin listesini Genel Müdürlüğe bildirir. Patates çeşitleri ile birlikte, çeşitlerin dayanıklı oldukları zararlı organizmanın türlerini, patotiplerini, virülans gruplarını veya popülasyonları ile nispi duyarlılıklarını belirtirler.

**Dayanıklı patates çeşidinde zararlı organizma** **bulaşıklığının doğrulandığına dair bildirim**

**MADDE 9-** (1) Müdürlük, zararlının herhangi bir patotipinde veya yeni bir patotipinde şüphelenilen bir değişiklikle ilişkili olarak, dayanıklı bir patates çeşidinin etkinliğindeki bozulma veya değişiklikten kaynaklanan zararlının herhangi bir bulgusu belirlendiğinde ilgili araştırma enstitüsüne bildirir.

(2) Bu maddenin birinci fıkrası uyarınca bildirilen tüm durumlarda, ilgili araştırma enstitüsü EK-1 ile EK-3'te belirtilen yöntemleri kullanarak ilgili patotipi araştırır ve bildirilen durumun zararlının söz konusu patotipindeki bir değişiklikten ya da yeni bir patotipten kaynaklı olup olmadığını belirler.

(3) Araştırma enstitüleri, bu maddenin birinci ve ikinci fıkraları uyarınca elde edilen bilgileri derhal kaydeder ve Genel Müdürlüğe bildirir.

**Tedbirlerin iptali**

**MADDE 10-** (1) İlgili müdürlük, sınırlandırılmış bir alanla ilgili olarak, EK-4'te belirtilen koşullara uygun şekilde, zararlı organizmadan arınmış hale geldiğinde, 7 nci madde uyarınca kabul edilen tedbirleri iptal edebilir.

(2) Bu maddenin birinci fıkrası uyarınca tedbirlerin kaldırılmasının ardından, ilgili müdürlük, zararlı organizmanın bulaşık alanda bulunan patotipine hassas olan patates çeşidinin dikilmesini sağlar ve hasatta ilk ürünü denetler. İlgili müdürlüğün kontrolü tamamlanmadan ilk ürünün sınırlandırılmış alan dışına nakline izin verilmez.

(3) Bu maddenin birinci fıkrasından istisna olarak, bulaşık alanın belirli bölümlerinde zararlının son tespitinin üzerinden en az 10 yıl geçtikten sonra, ilgili müdürlük, Ek-4' ün 2 nci maddesi uyarınca, sınırlandırılmış alanların ilgili bölümlerinde geçerli olan tedbirleri kısmen iptal edebilir.

(4) 7 nci maddenin ikinci fıkrasının (a) bendinden istisna olarak, 7 nci maddede öngörülen tedbirlerin kısmi iptaline ilişkin koşulların yerine getirilmesi halinde, dikim amaçlı olmayan patatesler, zararlının bulaşık üretim yerinde bulunan patotiplerine veya ülkede varlığı bilinen tüm patotiplere dayanıklı bir çeşit olması koşuluyla yetiştirilebilir.

**ÜÇÜNCÜ BÖLÜM**

**Çeşitli ve Son Hükümler**

**İdari yaptırımlar**

**MADDE 11-** (1) Bu Yönetmelik hükümlerine aykırı davrananlar hakkında 5996 sayılı Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanununun 38 inci maddesinin ilgili hükümlerine göre idari yaptırım uygulanır.

**Avrupa Birliği mevzuatına uyum**

**MADDE 12-** (1)Bu Yönetmelik, *Synchytrium endobioticum’*un (Schilbersky) Percival Eradikasyonu ve Yayılmasının Önlenmesi İçin Alınacak Tedbirlere ilişkin Avrupa Birliğinin 11/7/2022 tarihli 2022/1195 sayılı Komisyon Uygulama Tüzüğü dikkate alınarak Avrupa Birliği mevzuatına uyum çerçevesinde hazırlanmıştır.

**Yürürlük**

**MADDE 13-** (1) Bu Yönetmelik yayımı tarihinde yürürlüğe girer.

**Yürütme**

**MADDE 14-** (1) Bu Yönetmelik hükümlerini Tarım ve Orman Bakanı yürütür.

**EK-1**

**ZARARLI ORGANİZMANIN TESPİTİ VE TANISI İÇİN TEST YÖNTEMLERİ**

1. **Sporlar aracılığıyla test etme**

Tespit ve tanılama, topraktan eleme yöntemi ile elde edilen zararlı organizmanın dinlenme sporları veya doğrudan bitki materyalinden elde edilen yazlık spor keselerinin (sporangiyumların) belirlenmesi ile yapılır.

1. **Tespit yöntemleri**

Zararlı organizmanın sporlarının topraktan ekstraksiyonu için aşağıdaki yöntemlerden biri kullanılır:

a) [Pratt (1976) (1)](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32022R1195&qid=1658833801140#ntr1-L_2022185EN.01007001-E0001) tarafından bildirilen toprak eleme yöntemi,

b) van Leeuwen vd. (2005) [(2)](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32022R1195&qid=1658833801140#ntr2-L_2022185EN.01007001-E0002) tarafından bildirilen toprak eleme yöntemi,

c) Yüksek hacimli örnek işleme süreçleri için Wander vd. (2007) (3) tarafından bildirilen yoğunluk aşamalı (zonal) santrifüjleme tekniği.

1. **Tanımlama yöntemleri**

Ekstraksiyondan sonra, zararlı organizmanın sporları aşağıdaki yöntemlerden biri ile tanımlanır:

a) 100x – 400x büyütmede ışık mikroskobu altında morfolojik tanılama,

b) Lévesque vd*.* (2001) [(4)](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32022R1195&qid=1658833801140#ntr4-L_2022185EN.01007001-E0004) ve van den Boogert vd*.* (2005) [(5)](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32022R1195&qid=1658833801140#ntr5-L_2022185EN.01007001-E0005) tarafından yapılan bildirimlere dayalı primerlerin kullanıldığı geleneksel polimeraz zincir reaksiyonu (PCR),

c) van Gent-Pelzer vd*.* (2010) [(6)](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32022R1195&qid=1658833801140#ntr6-L_2022185EN.01007001-E0006) tarafından bildirilen gerçek zamanlı (real time) PCR,

ç) Smith vd. (2014) [(7)](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32022R1195&qid=1658833801140#ntr7-L_2022185EN.01007001-E0007) tarafından bildirilen gerçek zamanlı (real time) PCR .

1. **Dinlenme sporlarının canlılığı**

Dinlenme sporlarının canlılığı, mikroskobik inceleme veya biyoanaliz ile belirlenebilir. Spor keselerinin (sporangiyumların) canlılığı, laktofenol veya su içine yerleştirilmiş Spor keselerinin mikroskobik incelemesi ile belirlenebilir (Przetakiewicz 2015) [(8)](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32022R1195&qid=1658833801140#ntr8-L_2022185EN.01007001-E0008). Granüler içerikli veya hafif yuvarlatılmış protoplazmalı Spor keselerinin canlı olarak, kalıcı olarak plazmolize olanlar veya görünür içeriği olmayanların ölü olduğu kabul edilir.

Alternatif olarak veya şüphe durumunda, Ek-4'ün 3 üncü maddesinde açıklandığı gibi bir biyoanaliz gerçekleştirilebilir.

1. **Patotiplerin belirlenmesi**

Patotiplerin belirlenmesinde taze siğiller kullanılır.

Test için inokulum aşağıdaki yöntemlerden biri ile üretilir:

a) Aşağıdaki iki adımdan oluşan SASA (Science and Advice for Scottish Agriculture) yöntemi:

1) İnokulum üretimi: Eski (kahverengi) siğil dokusu küçük parçalara ayrılarak sertleşene kadar oda sıcaklığında havada kurutulur. Daha sonra bu sert dokular elle veya mekanik olarak öğütülür. Öğütülmüş malzeme kuru elemeden geçirilerek 25 ila 75 µm’lik fraksiyon toplanır ve daha sonra Pratt (1976)(1)  tarafından bildirilen kloroform yöntemi kullanılarak ekstrakte edilir.

2) Taze siğil üretimi: Yaklaşık 10 mg ekstrakte edilmiş dinlenme sporları, küçük bir plastik petri kabında 10 ml steril damıtılmış suyun yüzeyine bırakılır ve çimlenene kadar karanlıkta 20°C'de inkübe edilir. Yaklaşık 1 ila 2 mm uzunluğunda küçük filizli patates yumruları, işaretli filizleri yukarı bakacak şekilde nemli kağıt mendille kaplı şeffaf plastik kutulara yerleştirilir. Sürgünler, bir şırınga kullanılarak eritilmiş vazelin ile halka şeklinde çevrelenir. Halka kırılmamış ve spor süspansiyonunu sızıntı yapmadan tutacak kadar yüksek olmalıdır. 10 ml çimlenen dinlenme sporları, steril su ile 20 ml'ye seyreltilir ve sürgün tamamen spor süspansiyonuna daldırılıncaya kadar bir pipet veya bir sıkma şişesi kullanılarak halkaların içine yerleştirilir. Plastik kutular kapaklarla kapatılarak 10 °C'de 4 gün inkübe edilir, Ardından kutular açılarak, inokulum ve vazelin halkaları uzaklaştırılır ve kutular 15 ila 18 °C'de, 16 saat ışıkta sisleme ile nemlendirilen serada inkubasyona bırakılır.

b) Spiekermann & Kothoff (1924) tarafından bildirilen yöntem [(9)](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32022R1195&qid=1658833801140#ntr9-L_2022185EN.01007001-E0009)

c) Potoček *et al.* (1991) [(10)](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32022R1195&qid=1658833801140#ntr10-L_2022185EN.01007001-E0010) tarafından bildirilen yöntem

ç) Glynne-Lemmerzahl [Glynne 1925 [(11)](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32022R1195&qid=1658833801140#ntr11-L_2022185EN.01007001-E0011); Lemmerzahl 1930 [(12)](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32022R1195&qid=1658833801140#ntr12-L_2022185EN.01007001-E0012); Noble and Glynne 1970 [(13)](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32022R1195&qid=1658833801140#ntr13-L_2022185EN.01007001-E0013)] tarafından bildirilen yöntem.

Avrupa’da olduğu bilinen 1(D1), 2(G1), 6(O1), 18(T1) ve 38(Nevşehir) tüm patotiplerin belirlenmesi için, farklı patates çeşitleri ile ayırıcı enfeksiyon testi yapılmalıdır. Tabloda belirtilen patates çeşitleri kullanılmalıdır. Enfeksiyon testi (d) maddesinde belirtilen protokol izlenerek yapılmalıdır (Glynne-Lemmerzahl yöntemi).

**Patates çeşitlerinin *Synchytrium endobioticum*’un patotiplerine seçici duyarlılığı**

|  |  |
| --- | --- |
| Patates Çeşitleri | Zararlı organizmanın patotipleri |
| 1(D1) | 2(G1) | 6(O1) | 18(T1) | 38(Nevşehir)(14) |
| Tomensa/Evora/Deodara | S | S | S | S | S |
| Irga/Producent | R | S | S | S | S |
| Talent | R | R\* | R\* | S | S |
| Saphir | R | S | R | R | S |
| Ikar/Gawin/Karolin/Belita | R | R | R | R | R |

‘S’: Duyarlı

‘R’: Dayanıklı

‘\*’: çeşidin zararlı organizmaya karşı zayıf duyarlılığını gösterir. ("siğil oluşumu gözlenmeyen nekrotik olmayan spor kesesi kümelerinin (sori alanlarının) varlığı")

--------------------------------------------

1. Pratt MA. 1976. A wet-sieving and flotation technique for the detection of resting sporangia of *Synchytrium endobioticum* in soil. *Annals of Applied Biology* 82: 21 – 29.
2. van Leeuwen GCM, Wander JGN, Lamers J, Meffert JP, van den Boogert PHJF, Baayen RP. 2005. Direct examination of soil for sporangia of *Synchytrium endobioticum* using chloroform, calcium chloride and zinc sulphate as extraction reagents. *EPPO Bulletin* 35: 25 – 31.
3. Wander JGN, van den Berg W, van den Boogert PHJF, Lamers JG, van Leeuwen GCM, Hendrickx G, Bonants P. 2007. A novel technique using the Hendrickx centrifuge for extracting winter sporangia of *Synchytrium endobioticum* from soil. *European Journal of Plant Pathology* 119: 165 – 174.
4. Lévesque CA, de Jong SN, Ward LJ & de Boer SH (2001) Molecular phylogeny and detection of *Synchytrium endobioticum*, the causal agent of potato wart. *Canadian Journal of Plant Pathology* 23: 200–201.
5. van den Boogert PHJF, van Gent-Pelzer MPE, Bonants PJM, de Boer SH, Wander JGN, Lévesque CA, van Leeuwen GCM, Baayen RP. 2005. Development of PCR-based detection methods for the quarantine phytopathogen *Synchytrium endobioticum*, causal agent of potato wart disease. *European Journal of Plant Pathology* 113: 47 – 57.
6. van Gent-Pelzer MPE, Krijger M, Bonants PJM. 2010. Improved real-time PCR assay for the detection of the quarantine potato pathogen, *Synchytrium endobioticum*, in zonal centrifuge extracts from soil and in plants. *European Journal of Plant Pathology* 126: 129 – 133.
7. Smith DS, Rocheleau H, Chapados JT, Abbott C, Ribero S, Redhead SA, Lévesque CA, De Boer SH. 2014. Phylogeny of the genus *Synchytrium* and the development of TaqMan PCR assay for sensitive detection of *Synchytrium endobioticum* in soil. *Phytopathology* 104: 422 – 432.
8. Przetakiewicz, J. 2015. The Viability of Winter Sporangia of *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. From Poland. American Journal of Potato Research 92:704-708.
9. Spieckermann A, Kothoff P. 1924. Testing potatoes for wart resistance. *Deutsche Landwirtschaftliche Presse* 51: 114 – 115.
10. Potoček J, Krajíčková K, Klabzubová S, Krejcar Z, Hnízdil M, Novák F, Perlová V. 1991. Identification of new *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. pathotypes in Czech Republic. *Ochrana Rostlin* 27: 191 – 205.
11. Glynne MD. 1925. Infection experiments with wart disease of potatoes. *Synchytrium endobioticum*. *Annals of Applied Biology* 12: 34 – 60.
12. Lemmerzahl J. 1930. A new simplified method for inoculation of potato cultivars to test for wart resistance. *Züchter* 2: 288 – 297.
13. Noble M, Glynne MD. 1970. Wart disease of potatoes. *FAO Plant Protection Bulletin* 18: 125 – 135.
14. Çakır E., Leeuwen, Van GCM, Kerstin, F, Meffert, JP, Janssen, WAP, Maden S., 2009. Identification of pathotypes of *Synchytrium endobioticum* found in infested fields in Turkey. OEPP/EPPO Bulletin 39:175–178p.

**EK-2**

**SÜRVEY TABLOSU**

Raporlama yılından önceki yıla ait patates hasadından elde edilen patates siğil hastalığı sürveyi sonuçlarını sunmak için hazırlanacak tablo.

Bu tablo yalnızca bir ilde hasat edilen patateslerde yapılan sürveyin sonuçları için kullanılır.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| İLLER | Patatesin kategorisi | Toplam üretim alanı (ha) |  | Yumruların makroskobik (görsel) kontrolleri |  | Laboratuvar testleri | Diğer bilgiler |
| Örnek sayısı | Lot numarası | Örnek miktarı | Örnekleme dönemi | Şüpheli sayısı | Örnek sayısı | Örnek miktarı | Testin türü | Pozitif sayısı |  |
| Örnek | Lot | Örnek | Lot |
|  | Dikim amaçlı üretilen patatesler (tohumluk) |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Sofralık, sanayilik veya nişastalık |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Diğer (1) (belirtiniz) |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

1. Salgın olan iller için, örneğin, salgınları araştırmak veya takip etmek için kullanılan örneklerin miktarlarını, genel sürveylerden ayrı değerlendirmek gerekir.

**EK-3**

**PATATES ÇEŞİDİNİN DAYANIKLILIĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ İÇİN PROTOKOL**

Patates çeşitlerinin dayanıklılık değerlendirilmesine ilişkin protokol aşağıdaki adımları içerir.

1. Konukçu bitkinin çeşidi başına en az 40 yumru kök veya sürgün çıkış noktası test edilir. Tekerrür için yumrular 2 grup şeklinde çalışılır.
2. Test genellikle 2 yıl sürer. Ancak bir çeşidin zararlının bir patotipine aşırı derecede duyarlı olması durumunda, test süresi 1 yıla indirilebilir.
3. Bir test sezonu başlamadan önce, inokulum, EK-1'de açıklanan yöntemler kullanılarak saflık açısından test edilir.
4. Test edilecek zararlı organizmanın patotipine son derece duyarlı bir patates çeşidi, bir pozitif kontrol olarak her zaman teste dahil edilir.
5. Aşağıdaki test yöntemlerinden biri kullanılır:
6. Glynne-Lemmerzahl yöntemi (Glynne 1925, Lemmerzahl 1930, Noble & Glynne 1970),
7. Spieckermann yöntemi (Spieckermann & Kothoff 1924), veya
8. Aşağıdaki adımlardan oluşan SASA (Science and Advice for Scottish Agriculture) yöntemi:
* Yumru hazırlığı: Yumrular, amaçlanan inokulasyondan yaklaşık 10 gün önce soğuk depodan çıkarılır, nazikçe yıkanır, kurutulur ve filizlenmeyi sağlamak için karanlıkta oda sıcaklığında saklanır. Pozitif kontrol olarak her inokulasyonda oldukça duyarlı bir çeşit ('Moren' veya karşılaştırılabilir duyarlılığa sahip bir çeşit) kullanılır.
* Dinlenme sporlarının çimlenmesi: Dinlenme sporlarının çimlenmesini sağlayacak koşullar inokulasyondan 21 gün önce oluşturulur. Yaklaşık 10 mg ekstrakte edilmiş spor, küçük plastik petri kaplarında 10 ml steril damıtılmış suyun yüzeyine bırakılır ve çimlenene kadar karanlıkta 20 °C'de inkübe edilir. Her petri kabının içeriği, inokulasyon için ilave 10 ml steril damıtılmış su ile seyreltilir.
* Sürgünlerin inokulasyonu ve inkubasyonu: Sürgünler 1 mm uzunluğa ulaştığında eritilmiş vazelin ile halka şeklinde çevrelenir. Vazelin halkası, spor süspansiyonunu sızıntı yapmadan tutacak şekilde kırılmamış ve süspansiyonun sürgünü kaplayacağı kadar yüksek olmalıdır. Her yumru üzerinde tek bir sürgün veya tek bir sürgün kümesi halka şeklinde çevrilir. Yumrular, halkalı sürgünleri yukarı bakacak şekilde nemli kağıt ile kaplanmış plastik kutulara yerleştirilir. Vazelin halkaları, sürgün tamamen batana kadar bir pipet veya bir sıkma şişesi kullanılarak spor süspansiyonu ile doldurulur. Plastik kutular kapaklarla kapatılır ve karanlıkta 10°C'de 4 gün inkübe edilir, ardından vazelin halkaları çıkarılır ve kutular periyodik sisleme nemlendirmesi altında 15–18 °C'de bir seraya açık olarak yerleştirilir (günde 3 kez 30 dakika). Örneğin, sürgünün çürümesi veya gelişmemesi nedeniyle enfeksiyonun başarısız olduğu durumlarda, yumru başka bir sürgün kullanılarak yeniden test edilebilir;
* Değerlendirme: Sürgünler, inokulasyondan 28 gün sonra, 10-15x büyütmeli bir stereo mikroskop ve bir ışık mikroskobu kullanılarak enfeksiyon açısından incelenir. Yumruların en az %80'inde ve pozitif kontrolde tabloda bildirilen 4 veya 5 puanlık reaksiyonları gözlemlenir. En az bir yumruda da 5 puanlık reaksiyon gözlenmelidir.
1. Tüm yumrular değerlendirilir ve tabloda belirtildiği gibi 1'den 5'e kadar bir dayanıklılık sıralaması puanı verilir.
2. Test edilen her patates çeşidi, yumru ve göz alanı değerlendirmesine göre bir dayanıklılık grubu altında çok dayanıklı, dayanıklı, az duyarlı veya çok duyarlı olmak üzere sınıflandırılır.

a) Tüm tekerrürlerdeki tüm yumrular 1 puana sahipse, çeşit ' çok dayanıklı' olarak değerlendirilir

b) Tüm tekerrürlerdeki tüm yumrular 1 ile 3 arasında bir puana sahipse, çeşit 'dayanıklı' olarak değerlendirilir.

c) Bir veya daha fazla yumru 4 puana sahipse çeşit ‘az duyarlı’ olarak (sadece bir yumru 4 puana sahipse, çeşit lotundaki saflığı bozan katışkının belirlenmesi için test tekrarlanabilir).

ç) Bir tekrarda en az bir yumru 5 puana sahipse, çeşit ‘çok duyarlı olarak değerlendirilir.

**Patates test popülasyonları için standart puanlama tablosu**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Standart puan** | **Dayanıklılık grubu** | **Dayanıklılık sınıfı** | **Tanımı** |
| 1 | R1 | Çok dayanıklı | Erken savunma nekrozu; görünür spor kesesi kümesi (soruş)oluşumu yok. |
| 2 | R1 | Dayanıklı | Geç savunma nekrozu; spor kesesi kümesi (soruş) oluşumu kısmen görünür, olgunlaşmamış veya olgunlaşmadan önce nekrotik spor kesesi kümeleri. |
| 3 | R2 | Az dayanıklı | Çok geç savunma nekrozu; tek olgun spor kesesi kümesiveya spor kesesi kümeleriiçeren alanlar gelişmiş, ancak tamamen nekrozla çevrili; aynı yumrunun diğer alanlarında açık nekrozlar, en fazla 5 nekrotik olmayan yazlık spor kesesi kümesi . Siğil veya dinlenme sporları oluşumu yok.Grup 3 ve 4 arasında karar vermek için enfekte dokudan mikroskobik inceleme için ince preparatlar hazırlamak gerekebilir: dinlenme sporları yoksa puan 3 olur. |
| 4 | S1 | Az duyarlı | Dağınık enfeksiyonlar; nekrotik olmayan, spor kesesi kümesi veya kümeleri sayıca az; sürgündeki diğer enfeksiyon bölgelerinde geç nekroz mevcut olabilir; sürgün hafifçe deforme olabilir (kalınlaşmış). Dinlenme (kış) spor keseleri (sporangiyumları) mevcuttur.Grup 3 ve 4 arasında karar vermek için enfekte dokudan mikroskobik inceleme için ince preparatlar hazırlamak gerekebilir: dinlenme sporları varsa puan 4 olur. |
| 5 | S2 | Çok duyarlı | Yoğun enfeksiyon alanları, çok sayıda nekrotik olmayan olgun spor kesesi kümeleri , yoğun nekrotik olmayan enfeksiyon bölgeleri olan alanlar, baskın siğil oluşumu. |

**EK-4**

**TEDBİRLERİN İPTALİ İÇİN KOŞULLAR**

**(1) Tedbirlerin iptali için koşullar**

a) *Z*ararlı organizmanın son tespitinden itibaren en az 50 yıl sonra, bulaşık alanda tüm bu süre boyunca 7 nci maddenin ikinci ve üçüncü fıkralarında yer alan hükümlere uyulduğunu ve bulaşık alanın kalıcı otlak olarak kullanılmadığını gösteren bir ürün kaydı varsa,

b)Zararlı organizmanın son tespitinden itibaren, en az 20 yıl sonra, tüm bu süre boyunca 7 nci maddenin ikinci ve üçüncü fıkralarında yer alan hükümlere uyulduğunu ve bulaşık alanın kalıcı otlak olarak kullanılmadığı ve

1)İki biyoanalizde duyarlı patates çeşitlerinde (3 üncü maddede açıklandığı gibi) zararlı organizma ile enfeksiyon belirtisi bulunmamışsa,

veya

2) Bir biyoanalizde (duyarlı patates çeşitlerinde (3) numaralı maddede açıklandığı gibi) zararlı organizma ile bulaşıklık belirtisi bulunmamışsa ve EK-1'in 2 nci maddesinde belirtilen yöntemlerden biri ile bulaşık alan toprağının analizinin yapılması ve mikroskopla doğrudan incelenmesinde canlı dinlenme sporları bulunmamışsa.

Toprak testi için aşağıdaki adımların tümü izlenmelidir:

1. Bulaşık alan, her biri 0,33 hektarlık birimlere bölünür.
2. Alanı eşit olarak temsil edecek şekilde veya bilinen bulaşık odaklara göre toplanmak üzere, her birimden 20 cm derinliğe kadar 60 alt örnek alınır.
3. Alt örnekler, hektar başına 3 örnek elde edilecek şekilde iyice karıştırılır.

**(2) Tedbirlerin kısmen iptali**

Bulaşık alanlarda zararlı organizmanın son tespitinin üzerinden en az 10 yıl geçtikten sonra, bu alanlar için 7 nci maddede öngörülen tedbirlerin kısmen iptal edilmesi düşünülebilir. 7 nci maddenin ikinci ve üçüncü fıkralarına tüm bu süre boyunca uyulduğunu ve bulaşık alanın kalıcı otlak olarak kullanılmadığını gösteren bir ürün kaydı varsa ve:

a) Duyarlı patates çeşitleri ile bu ekin 3 üncü maddesinde açıklandığı gibi iki bioanalizde zararlı organizma ile hiçbir bulaşıklık belirtisi bulunmamalıdır.

 veya

b) Bu ekin 3 üncü maddesinde açıklandığı gibi, duyarlı patates çeşitleriyle bir bioanalizde zararlı organizma ile bulaşıklık belirtisi bulunmamışsa ve EK-1'in 2 nci maddesinde belirtilen yöntemlerden biri ile sporların bulaşık alan toprağının ekstraksiyonunun ardından mikroskopla doğrudan incelenmesi sonucu gram toprak başına 5'ten az canlı dinlenme sporu bulunmuşsa.

Test için, aşağıdaki adımlar izlenir:

* Bulaşık alan, her biri 0,33 hektarlık birimlere bölünür.
* Alanı eşit olarak temsil edecek şekilde veya bilinen bulaşık odaklara göre toplanmak üzere, her birimden 20 cm derinliğe kadar, 60 alt örnek alınır.
* Alt örnekler, hektar başına 3 örnek elde edilecek şekilde iyice karıştırılır.

Bu koşulların sağlanmaması durumunda, en az 2 yıllık bir bekleme süresinin ardından tedbirlerin kısmen geri alınması yeniden değerlendirilebilir. Bu bekleme süresinin uzunluğunu belirlerken bulaşıklık seviyesi ve/veya tespit edilen canlı sporların sayısı dikkate alınır.

(**3) Tedbirlerin kaldırılması amacıyla yapılacak biyoanalizler**

Birkaç patates yumrusu, patates gelişimine uygun sıcaklık, nem ve ışık koşullarında en az 5 litre toprakla birlikte saksılara dikilir. Tüm patotiplere oldukça duyarlı bir çeşit seçilir (Deodara, Evora, Morene, Tomensa, Maritiema, Arran Chief gibi).

Büyüyen patates bitkileri yaklaşık 60 cm yüksekliğe ulaştığında kesilir. Yaklaşık 100 gün sonra yeni oluşan yumrularda siğil varlığı yönünden kontrol yapılır.

Zararlı organizmadan ari toprağın negatif kontrolleri ve bulaşık toprağın pozitif kontrolleri her zaman teste dahil edilmelidir.

Pozitif kontrol yumrularında siğil oluşması ve negatif kontrol yumrularında siğil oluşmaması durumunda test geçerli kabul edilir. Sera içindeki sıcaklık ve nem koşulları kayıt altına alınacaktır. Test örneklerinde oluşan siğiller, yazlık spor keselerinin (sporangiyumların) ve/veya dinlenme sporlarının varlığı açısından mikroskobik olarak incelenmelidir.

Testin tamamı, zararlı organizmanın daha fazla yayılmasını önleyen koşullar altında gerçekleştirilir.