

REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) 2022/1195 DE LA COMISIÓN**de 11 de julio de 2022****por la que se establecen medidas para erradicar y prevenir la propagación de *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival**

LA COMISIÓN EUROPEA,

Visto el Tratado de Funcionamiento de la Unión Europea,

Visto el Reglamento (UE) 2016/2031 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 26 de octubre de 2016, relativo a las medidas de protección contra las plagas de los vegetales, por el que se modifican los Reglamentos (UE) n.º 228/2013, (UE) n.º 652/2014 y (UE) n.º 1143/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo y se derogan las Directivas 69/464/CEE, 74/647/CEE, 93/85/CEE, 98/57/CE, 2000/29/CE, 2006/91/CE y 2007/33/CE del Consejo ⁽¹⁾, y en particular su artículo 28, apartado 1, letras a) a h),

Considerando lo siguiente:

- (1) El Reglamento (UE) 2016/2031 constituye la base de la legislación de la Unión sobre medidas de protección contra las plagas de los vegetales. Dado que dicho Reglamento establece un nuevo conjunto de normas, deroga, con efectos a partir del 1 de enero de 2022, varios actos basados en las normas anteriores del sector.
- (2) Uno de estos actos derogados es la Directiva 69/464/CEE del Consejo ⁽²⁾, que establece medidas contra *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival («plaga especificada»), el agente patógeno de la sarna verrugosa de la patata.
- (3) Además, desde la adopción de dicha Directiva, se han producido nuevos avances técnicos y científicos en relación con la biología y la distribución de la plaga especificada, al tiempo que se han desarrollado nuevos métodos de prueba para detectarla e identificarla, y se han aprobado otros métodos para erradicarla y evitar su propagación.
- (4) Procede, por tanto, adoptar nuevas medidas para los vegetales de *Solanum tuberosum* L., excepto las semillas («vegetales especificados»), a fin de erradicar la plaga especificada en sitios de producción infestados en caso de que se detecte su presencia en el territorio de la Unión y evitar su propagación. No obstante, algunas medidas establecidas en la Directiva 69/464/CEE, en particular las relativas a la detección y prevención de la propagación de la plaga especificada, siguen siendo adecuadas y, por tanto, deben incluirse.
- (5) Las autoridades competentes deben llevar a cabo prospecciones anuales basadas en el riesgo para detectar la presencia de la plaga especificada, al menos mediante inspección visual de tubérculos en los sitios de producción en que se cultivan o almacenan los vegetales especificados, con el fin de garantizar la identificación y erradicación de la plaga especificada si se determina su presencia.
- (6) Procede que las normas relativas a las prospecciones incluyan disposiciones sobre el muestreo y las pruebas para detectar la presencia de la plaga especificada, realizados de acuerdo con los últimos avances técnicos y científicos. Las normas relativas a las prospecciones anuales deben adaptarse al uso previsto de los vegetales especificados, para garantizar que las inspecciones visuales, los muestreos y las pruebas se lleven a cabo en el momento y las condiciones más adecuados para cada vegetal y su utilización.
- (7) Los sitios de producción que se consideren infestados por la plaga especificada deben registrarse oficialmente, y los vegetales infectados deben designarse oficialmente como infectados, a fin de garantizar un control transparente de los mismos y la aplicación de las medidas adecuadas para erradicar la plaga especificada y evitar su propagación.
- (8) Procede, por tanto, adoptar medidas en relación con los sitios de producción infestados y los vegetales infectados, a fin de garantizar que la plaga especificada se erradique y no se propague más. Dichas medidas deben incluir el establecimiento de zonas demarcadas, y también procede adoptar medidas adecuadas para el muestreo, las pruebas y las inspecciones.

⁽¹⁾ DO L 317 de 23.11.2016, p. 4.

⁽²⁾ Directiva 69/464/CEE del Consejo, de 8 de diciembre de 1969, relativa a la lucha contra la sarna verrugosa (DO L 323 de 24.12.1969, p. 1).

- (9) Las variedades de patata deben designarse como resistentes a un determinado patotipo de la plaga especificada cuando se cumplan determinadas condiciones. Las pruebas para determinar esa resistencia deben llevarse a cabo de conformidad con los protocolos técnicos más actualizados. Esta designación es necesaria como una de las medidas adoptadas para erradicar la plaga especificada de las zonas demarcadas.
- (10) Las medidas adoptadas para erradicar la plaga especificada deben revocarse si se ha determinado que las zonas demarcadas se encuentran libres de la plaga especificada o tras un período de espera adecuado durante el cual no se hayan cultivado plantas hospedadoras. Se trata de un planteamiento proporcionado, dado el riesgo fitosanitario despreciable en relación con la presencia de la plaga especificada en dichas zonas.
- (11) A fin de que la Comisión pueda garantizar una visión general de las medidas adoptadas por los Estados miembros en la Unión y de que los Estados miembros adapten sus respectivas medidas en caso necesario, los Estados miembros deben notificar a la Comisión y a los demás Estados miembros, a más tardar el 31 de enero de cada año, una lista de todas las nuevas variedades de patatas cuya resistencia a las plagas especificadas hayan determinado mediante pruebas oficiales durante el año anterior.
- (12) El presente Reglamento debe entrar en vigor a los tres días de su publicación en el *Diario Oficial de la Unión Europea*, a fin de garantizar que se aplique lo antes posible tras la derogación de la Directiva 69/464/CEE.
- (13) Las medidas previstas en el presente Reglamento se ajustan al dictamen del Comité Permanente de Vegetales, Animales, Alimentos y Piensos.

HA ADOPTADO EL PRESENTE REGLAMENTO:

Artículo 1

Objeto

El presente Reglamento establece medidas para erradicar *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival y evitar su propagación en el territorio de la Unión.

Artículo 2

Definiciones

A los efectos del presente Reglamento, se entenderá por:

- 1) «plaga especificada»: *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival;
- 2) «vegetales especificados»: los vegetales de *Solanum tuberosum* L., excepto las semillas.

Artículo 3

Prospecciones y pruebas de laboratorio de la plaga especificada

1. Las autoridades competentes llevarán a cabo prospecciones anuales basadas en el riesgo para detectar la presencia de la plaga especificada, al menos mediante inspección visual de tubérculos en los sitios de producción en que se cultivan o almacenan los vegetales especificados.
2. En caso de sospecha de infección de los vegetales especificados por la plaga especificada, se tomarán muestras que se someterán a pruebas para detectar la presencia de la plaga especificada, utilizando los métodos establecidos en el anexo I.
3. Los Estados miembros notificarán a la Comisión y a los demás Estados miembros, a más tardar el 30 de abril de cada año, de los resultados de las prospecciones mencionadas en el apartado 1 llevadas a cabo durante el año anterior. Comunicarán esos resultados de conformidad con el modelo que figura en el anexo II.

Artículo 4

Designación de lugares de producción como infestados y de vegetales especificados como infectados

1. Las autoridades competentes designarán un sitio de producción como infestado por la plaga especificada cuando la presencia de la plaga especificada en dicho sitio haya sido oficialmente confirmada por las pruebas mencionadas en el artículo 3, apartado 2.
2. Los vegetales especificados cultivados en un sitio de producción designado como infestado por la plaga especificada o que hayan estado en contacto con el suelo en el que se haya detectado la plaga especificada deberán ser designados oficialmente como infectados.

Artículo 5

Establecimiento de zonas demarcadas

1. Cuando se confirme oficialmente la presencia de la plaga especificada, las autoridades competentes delimitarán sin demora una zona de conformidad con el apartado 2. Determinarán el patotipo mediante los métodos establecidos en el punto 5 del anexo I.
2. La zona demarcada constará de:
 - a) una zona infestada, que incluya al menos el sitio de producción designado como infestado, y
 - b) una zona tampón alrededor de la zona infestada.

La delimitación de la zona tampón a que se refiere el párrafo primero, letra b), se basará en principios científicos sólidos, la biología de la plaga especificada, el nivel de infestación, la distribución y la frecuencia de cultivo de los vegetales especificados en la zona afectada, las condiciones medioambientales y geográficas y el riesgo específico de propagación de esporas latentes.

3. Las autoridades competentes llevarán a cabo las investigaciones adecuadas para determinar el origen de la infección. Rastrearán los vegetales especificados asociados con el caso de infección correspondiente, incluidos los que se hayan trasladado antes del establecimiento de la zona demarcada.
4. Dentro de la zona demarcada, las autoridades competentes informarán a los operadores profesionales sobre la amenaza de la plaga especificada y las medidas adoptadas para erradicarla y evitar su propagación fuera de dicha zona. Velarán por que los operadores profesionales conozcan la delimitación de la zona demarcada, de la zona infestada y de la zona tampón, así como las disposiciones del presente Reglamento.

Artículo 6

Medidas de erradicación

1. Los vegetales especificados que procedan de una zona infestada serán destruidos o transformados en condiciones seguras a fin de evitar una mayor propagación de la plaga especificada. Si ya no es posible determinar el sitio de producción del que proceden los vegetales especificados infectados, todo el lote en el que se hayan encontrado los vegetales especificados infectados se destruirá o transformará en condiciones que impidan una mayor propagación de la plaga especificada.
2. En una zona infestada, se aplicarán todas las medidas siguientes:
 - a) no se plantarán, cultivarán ni almacenarán vegetales especificados;
 - b) no se cultivarán ni almacenarán otros vegetales destinados a la replantación fuera de la zona infestada, ni en el suelo ni en ningún otro lugar;
 - c) se eliminará el suelo de los vegetales distintos de los mencionados en las letras a) y b) mediante métodos adecuados que garanticen que no existe ningún riesgo identificable de propagación de la plaga especificada, antes de que estos vegetales se trasladen de la zona infestada a la zona tampón, o se saquen de la zona demarcada, o inmediatamente después;

- d) se limpiarán el suelo y los restos vegetales de la maquinaria antes o inmediatamente después de sacarla de la zona infestada y antes de introducirla en cualquier sitio de producción situado en la zona tampón o fuera de la zona demarcada;
 - e) todo suelo o resto procedente de una zona infestada solo podrá ser trasladado y utilizado o depositado fuera de dicha zona en condiciones que garanticen que no existe ningún riesgo identificable de propagación de la plaga especificada.
3. Los vegetales distintos de los mencionados en el apartado 2, letras a) y b), de los que no se haya eliminado el suelo solamente podrán sacarse de la zona demarcada si se cumplen las dos condiciones siguientes:
- a) que se transporten para eliminar la tierra de dichos vegetales mediante métodos adecuados que garanticen que no existe ningún riesgo identificable de propagación de la plaga especificada;
 - b) que el transporte y la eliminación del suelo se llevan a cabo bajo supervisión oficial, y que se hayan adoptado las medidas adecuadas para prevenir efectivamente la propagación de la plaga especificada.
4. Las autoridades competentes deberán velar por que:
- a) en la zona tampón no se cultiven vegetales destinados a la replantación fuera de la zona demarcada;
 - b) en la zona tampón solo se cultiven los vegetales especificados de una variedad que sea resistente a los patotipos de la plaga especificada encontrados en la zona infestada, o a todos los patotipos que se sepa que existen en su Estado miembro, conforme a lo dispuesto en el artículo 7, y que no estén destinados a la producción de vegetales especificados para la plantación, y
 - c) todo suelo o resto procedente de la zona tampón solo podrá ser trasladado y utilizado o depositado fuera de la zona demarcada en condiciones que garanticen que no existe ningún riesgo identificable de propagación de la plaga especificada.
5. Los Estados miembros notificarán dichas medidas a la Comisión y a los demás Estados miembros inmediatamente después de su adopción.

Artículo 7

Varietades de patata resistentes a los patotipos de la plaga especificada

1. Una variedad de patata se designará como resistente a un patotipo particular de la plaga especificada cuando reaccione a una contaminación por el agente patógeno de dicho patotipo de manera que no se produzcan esporas latentes.
2. Las pruebas de resistencia se llevarán a cabo de conformidad con el protocolo establecido en el anexo III. El grado de resistencia de las variedades de patata se cuantificará de acuerdo con el baremo de puntuación estándar que figura en el cuadro del anexo III.
3. Los Estados miembros notificarán a la Comisión y a los demás Estados miembros, a más tardar el 31 de enero de cada año, una lista de todas las nuevas variedades de patatas cuya comercialización hayan autorizado durante el año anterior y cuya resistencia a la plaga especificada hayan determinado mediante la realización de las pruebas mencionadas en el apartado 2. Se indicarán las variedades junto con los patotipos a los que son resistentes, así como el método utilizado para determinar esa resistencia.

Artículo 8

Notificación de la presencia confirmada de la plaga especificada en una variedad de patata resistente

1. Los operadores profesionales, así como cualquier otra persona que advierta algún síntoma de la plaga especificada como consecuencia de una degradación o variación de la eficacia de una variedad de patata resistente que esté relacionado con una supuesta modificación del patotipo de la plaga especificada o con un nuevo patotipo, informarán de ello a las autoridades competentes.
2. En todos los casos notificados conforme al apartado 1, las autoridades competentes investigarán el patotipo de que se trate y confirmarán, utilizando los métodos establecidos en los anexos I y III, si la presencia se debe a una modificación del patotipo de la plaga especificada o a un nuevo patotipo.

3. Las autoridades competentes registrarán inmediatamente la información obtenida de conformidad con los apartados 1 y 2.

Los Estados miembros notificarán a la Comisión y a los demás Estados miembros, a más tardar el 31 de enero de cada año, los detalles de las confirmaciones efectuadas con arreglo al apartado 2 en lo que respecta al año anterior.

Artículo 9

Revocación de las medidas

1. Las autoridades competentes podrán revocar las medidas adoptadas con arreglo al artículo 6 en relación con una zona demarcada cuando dicha zona quede libre de la plaga especificada de conformidad con las condiciones establecidas en el anexo IV.

2. Tras la revocación de las medidas con arreglo al apartado 1, las autoridades competentes inspeccionarán, en el momento de la cosecha, el primer cultivo de los vegetales especificados que sean sensibles al patotipo pertinente de la plaga especificada. Este primer cultivo no se sacará de la zona demarcada hasta que se lleve a cabo la inspección, a menos que el traslado se lleve a cabo bajo el control de la autoridad competente.

3. No obstante lo dispuesto en el apartado 1, y transcurrido un mínimo de 10 años desde la última detección de la plaga especificada en determinadas partes de la zona infestada, las autoridades competentes podrán revocar parcialmente las medidas aplicables en las partes respectivas de las zonas demarcadas afectadas, de conformidad con el punto 2 del anexo IV.

4. No obstante lo dispuesto en el artículo 6, apartado 2, letra a), cuando se cumplan las condiciones para la revocación parcial de las medidas previstas en el artículo 6, los vegetales especificados no destinados a la plantación podrán cultivarse siempre que sean de una variedad resistente a los patotipos de la plaga especificada encontrados en el sitio de producción infestado, o a todos los patotipos que se sepa que existen en el Estado miembro de que se trate.

Artículo 10

Entrada en vigor

El presente Reglamento entrará en vigor a los tres días de su publicación en el *Diario Oficial de la Unión Europea*.

El presente Reglamento será obligatorio en todos sus elementos y directamente aplicable en cada Estado miembro.

Hecho en Bruselas, el 11 de julio de 2022.

Por la Comisión
La Presidenta
Ursula VON DER LEYEN

ANEXO I

Métodos de análisis para la detección e identificación de la plaga especificada a que se refiere el artículo 3, apartado 2**1. Prueba por medio de las esporas**

Para la detección e identificación se utilizan esporangios de verano y esporas latentes, que se obtienen del suelo después del tamizado, o directamente del material vegetal.

2. Métodos de detección:

Para la extracción de esporas de la plaga especificada del suelo, se utilizará uno de los métodos siguientes:

- a) método de tamizado del suelo descrito por Pratt (1976) ⁽¹⁾;
- b) método de tamizado del suelo descrito por Van Leeuwen *et al.* (2005) ⁽²⁾;
- c) técnica de centrifugación zonal para el tratamiento de muestras de alto rendimiento descrita por Wander *et al.* (2007) ⁽³⁾.

3. Métodos de identificación

Tras la extracción, las esporas de la plaga especificada se identificarán mediante uno de los métodos siguientes:

- a) identificación morfológica con un microscopio óptico a 100-400 aumentos;
- b) PCR convencional utilizando cebadores basados en Lévesque *et al.* (2001) ⁽⁴⁾ y van den Boogert *et al.* (2005) ⁽⁵⁾;
- c) PCR en tiempo real utilizando cebadores y sondas conforme a Van Gent-Pelzer *et al.* (2010) ⁽⁶⁾;
- d) PCR en tiempo real utilizando cebadores y sondas conforme a Smith *et al.* (2014) ⁽⁷⁾.

4. Viabilidad de las esporas latentes

La determinación de la viabilidad de las esporas latentes puede lograrse mediante un examen microscópico o un bioensayo. La viabilidad de los esporangios puede determinarse mediante un examen microscópico de los esporangios montados en lactofenol o en agua (Przetakiewicz 2015) ⁽⁸⁾. Los esporangios con contenido granular o protoplasma ligeramente esférico pueden considerarse viables. Aquellos en un estado de plasmólisis permanente o sin contenido aparente se considerarán muertos.

Como alternativa, o en caso de duda, podrá realizarse un bioensayo, tal como se describe en el punto 3 del anexo IV.

5. Determinación de los patotipos

La determinación de los patotipos requerirá verrugas nuevas.

⁽¹⁾ Pratt M.A. 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 G.C.M., Wander J.G.N., Lamers J., Meffert J.P., van den Boogert P.H.J.F., Baayen R.P. 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 J.G.N., van den Berg W., van den Boogert P.H.J.F., Lamers J.G., van Leeuwen G.C.M., 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 C.A., de Jong S.N., Ward L.J. & de Boer S.H. (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 P.H.J.F., van Gent-Pelzer M.P.E., Bonants P.J.M., de Boer S.H., Wander J.G.N., Lévesque C.A., van Leeuwen G.C.M., Baayen R.P. 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 M.P.E., Krijger M., Bonants P.J.M. 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 D.S., Rocheleau H., Chapados J.T., Abbott C., Ribero S., Redhead S.A., Lévesque C.A., De Boer S.H. 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.

El inóculo para la prueba se producirá mediante uno de los métodos siguientes:

a) método de SASA (Science and Advice for Scottish Agriculture), que consta de las dos etapas siguientes:

i) producción del inóculo

El tejido viejo (pardo) de la verruga deberá descomponerse en unidades más pequeñas y secarse al aire a temperatura ambiente hasta que se vuelva duro. El tejido duro se triturará manual o mecánicamente.

El material triturado se tamizará en seco, recogiendo la fracción de 25 a 75 µm, y posteriormente se extraerá utilizando el método de cloroformo de Pratt (1976)¹;

ii) producción de verrugas nuevas

Se rociarán unos 10 mg de esporas latentes extraídas sobre la superficie de 10 ml de agua destilada estéril en una pequeña placa de Petri de plástico y se incubarán en un lugar oscuro a 20 °C hasta su germinación.

Los tubérculos de patata con brotes pequeños de entre 1 y 2 mm de longitud se colocarán en cajas de plástico transparentes revestidas de un pañuelo de papel humedecido con los brotes anillados orientados hacia arriba. Los brotes se anillarán con vaselina fundida utilizando una jeringa. El anillo deberá no tener fisuras y tener la suficiente altura como para mantener la suspensión de esporas sin fugas.

Los 10 ml de esporas latentes en germinación se diluirán hasta los 20 ml con agua estéril y se introducirán en los anillos utilizando una pipeta o una botella flexible hasta que el brote quede completamente sumergido en la suspensión de esporas. Las cajas de plástico se tapanán y se incubarán durante 4 días a 10 °C, transcurridos los cuales se destapanán, el inóculo y los anillos de vaselina se retirarán y las cajas se colocará en un invernadero con condiciones de humedad a una temperatura de entre 15 y 18 °C (16 h de luz);

b) método de Spiekermann & Kothoff (1924) ⁽⁹⁾;

c) método de Potoček *et al.* (1991) ⁽¹⁰⁾;

d) método de Glynne-Lemmerzahl (Glynne 1925 ⁽¹¹⁾; Lemmerzahl 1930 ⁽¹²⁾; Noble & Glynne 1970 ⁽¹³⁾).

Para la determinación de todos los patotipos que se sabe que son pertinentes para la Unión [1(D1), 2(G1), 6(O1), 18(T1) y 38 (Nevşehir)] se utilizará una prueba de infección diferencial con diversas variedades del vegetal especificado tal como se indica en el cuadro. La prueba de infección se realizará siguiendo el protocolo mencionado en la letra d) (método Glynne-Lemmerzahl).

Sensibilidad selectiva de los cultivares de patata para la determinación de los patotipos de *S. endobioticum*

Cultivar	Patotipos de <i>S. endobioticum</i>				
	1(D1)	2(G1)	6(O1)	18(T1)	38(Nevşehir)
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»: sensible

«R»: resistente

*: Indica una sensibilidad débil de la variedad a *S. endobioticum* («presencia de superficies de soros no necróticos sin formación de verrugas»).

⁽⁹⁾ Spiekermann 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 M.D. 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 M.D. 1970. Wart disease of potatoes. *FAO Plant Protection Bulletin* 18: 125-135.

Modelo de prospecciones a que se refiere el artículo 3

Modelo para la presentación de los resultados de las prospecciones relativas a la **sarna verrugosa** de la cosecha de patata del año anterior al año de notificación.

Utilice este cuadro únicamente para los resultados de prospecciones de patatas cosechadas en su país.

Estado miembro o zona	Categoría de patatas	Superficie total de cultivo (ha)	Inspección visual de los tubérculos						Pruebas de laboratorio					Otros datos
			Número de muestras	Número de lotes	Tamaño de la muestra	Período de muestreo	N.º de sospechosos		Número de muestras	Tamaño de las muestras	Tipo de prueba	N.º de positivos		
							Muestras	Lotes				Muestras	Lotes	
	Patatas destinadas a la producción de tubérculos para la plantación													
	De consumo y destinadas a la transformación													
	Otras ⁽¹⁾ (especifíquense)													

⁽¹⁾ En el caso de los países con brotes, podría ser pertinente, por ejemplo, indicar por separado de las prospecciones generales la cantidad de muestras utilizadas para investigar los brotes o hacer un seguimiento de ellos.

ANEXO III

Protocolo para evaluar la resistencia de una variedad a que se refiere el artículo 7, apartado 2

El protocolo para evaluar la resistencia de una variedad incluirá los pasos siguientes.

- 1) Se someterán a una prueba un mínimo de 40 tubérculos o fragmentos de patata con un ojo por variedad del vegetal especificado. Se dividirán en dos grupos (réplicas).
- 2) La prueba tendrá una duración general de dos años. Solo en caso de que una variedad demuestre ser extremadamente sensible a un patotipo de la plaga especificada, la duración de la prueba podrá reducirse a un año.
- 3) Antes de que comience una temporada de pruebas, se comprobará la pureza del inóculo utilizando los métodos descritos en el anexo I.
- 4) En la prueba se incluirá siempre un control positivo en forma de una variedad del vegetal especificado que sea extremadamente sensible al patotipo de la plaga especificada que se vaya a analizar.
- 5) Se utilizará uno de los métodos de pruebas siguientes:
 - i) el método Glynne-Lemmerzahn (Glynne 1925, Lemmerzahn 1930, Noble & Glynne 1970);
 - ii) el método Spieckermann (Spieckermann & Kothoff 1924), o
 - iii) el método SASA (Science and Advice for Scottish Agriculture), que consta de todas las etapas siguientes:

— preparación de los tubérculos:

Los tubérculos se retirarán del almacén frigorífico unos diez días antes de la inoculación prevista, se lavarán con cuidado, se secarán y se almacenarán en un lugar oscuro a temperatura ambiente para inducir la germinación.

En cada inoculación se incluirá una variedad muy sensible («Morene» o una variedad de una sensibilidad equiparable) para que sirva de control positivo;

— germinación de las esporas latentes:

Las condiciones para inducir la germinación de las esporas latentes se generarán 21 días antes de la inoculación.

Se rociarán unos 10 mg de esporas extraídas sobre la superficie de 10 ml de agua destilada estéril en pequeñas placas de Petri de plástico y se incubarán en la oscuridad a 20 °C hasta su germinación.

El contenido de cada placa de Petri se diluirá con otros 10 ml de agua destilada estéril para la inoculación;

— inoculación e incubación de los brotes:

Cuando los brotes alcancen 1 mm de longitud, se anillarán con vaselina fundida. El anillo de vaselina deberá no tener fisuras para mantener la suspensión de las esporas sin fugas y tener la suficiente altura como para que la suspensión cubra el brote.

En cada tubérculo se anillará un único brote o una única agrupación de brotes.

Los tubérculos se colocarán en cajas de plástico revestidas de un pañuelo de papel humedecido con los brotes anillados orientados hacia arriba.

Los anillos de vaselina se llenarán con la suspensión de esporas utilizando una pipeta o una botella flexible hasta que el brote quede totalmente sumergido.

Las cajas de plástico se taparán y se incubarán durante 4 días a 10 °C en un lugar oscuro, transcurridos los cuales los anillos de vaselina se retirarán y las cajas se colocarán destapadas en un invernadero a 15-18 °C en condiciones de humedad inducidas periódicamente (3 veces al día durante 30 minutos).

En los casos en que no se haya producido la infección, por ejemplo porque el brote se haya podrido o no se haya desarrollado, el tubérculo podrá someterse a una nueva prueba utilizando otro brote;

— evaluación:

Los brotes se examinarán para detectar la infección 28 días después de la inoculación, utilizando un microscopio estereoscópico a 10-15 aumentos y un microscopio óptico.

Deberán observarse reacciones con una puntuación de 4 o 5, como se indica en el cuadro, en al menos el 80 % de los tubérculos utilizados como control positivo. Al menos un tubérculo deberá obtener una puntuación de 5.

- 6) Todos los tubérculos se evaluarán y recibirán una puntuación del baremo de resistencia del 1 a 5, como se indica en el cuadro.
- 7) Cada variedad que haya sido sometida a la prueba se clasificará en un grupo de resistencia («muy resistente», «resistente», «ligeramente sensible» o «extremadamente sensible»), según el margen de puntuaciones observadas dentro de la población respectiva de tubérculos individuales o fragmentos de patata con un ojo analizados:
- i) se considerará que una variedad es «muy resistente» si todos los tubérculos de todas las réplicas tienen una puntuación de 1;
 - ii) se considerará que una variedad es «resistente» si todos los tubérculos de todas las réplicas tienen una puntuación comprendida entre 1 y 3;
 - iii) se considerará que una variedad es «ligeramente sensible» si uno o más tubérculos obtienen una puntuación de 4 (si solo un tubérculo obtiene una puntuación de 4, podrá repetirse la prueba para excluir la impureza en el lote de la variedad);
 - iv) se considerará que una variedad es «extremadamente sensible» si al menos un tubérculo de una réplica obtiene una puntuación de 5.

Baremo de puntuación estándar para las poblaciones de patatas sometidas a pruebas

Puntuación estándar	Grupo de resistencia	Descripción de la resistencia	Descripción
1	R1	Extremadamente resistente	Necrosis de defensa temprana; no hay formación de soros visible.
2	R1	Resistente	Necrosis de defensa tardía; formación de soros parcialmente visible, soros inmaduros o necróticos antes de la maduración.
3	R2	Poco resistente	Necrosis de defensa muy tardía; soros individuales maduros o superficie de soros maduros desarrollados, pero totalmente rodeados de necrosis; hasta cinco soros de verano no necróticos admitidos, necrosis clara en otras zonas del mismo trozo de tubérculo. No hay formación de verrugas ni esporas latentes. Para decidir entre los grupos 3 y 4 puede ser necesario preparar portaobjetos con láminas finas de tejido infectado: si no hay esporas latentes, la puntuación será de 3.
4	S1	Ligeramente sensible	Infecciones dispersas; soros o superficies de soros no necróticos, muy pocos; la necrosis tardía puede estar presente en otros focos de infección en el brote; el brote puede haber sufrido una ligera deformación (aumento del grosor). Hay esporangios latentes (de invierno). Para decidir entre los grupos 3 y 4 puede ser necesario preparar portaobjetos con láminas finas de tejido infectado: si hay esporas latentes, la puntuación será de 4.
5	S2	Extremadamente sensible	Superficies densas de infección, numerosos soros o superficies de soros no necróticos maduros, superficies con focos densos de infección no necrótica, formación de verrugas predominante.

ANEXO IV

Condiciones para la revocación de las medidas a que se refiere el artículo 9**1. Condiciones para la revocación de las medidas**

- 1.1. Transcurrido un mínimo de 50 años desde la última detección de la plaga especificada, si existe un registro ininterrumpido de los cultivos de la zona infestada que muestre que se han cumplido las disposiciones del artículo 6, apartados 2 y 3, durante todo ese tiempo y que la zona infestada no se ha utilizado como pasto permanente.
- 1.2. Transcurrido un mínimo de 20 años desde la última detección de la plaga especificada, si existe un registro ininterrumpido de cultivos que muestre que se han cumplido las disposiciones del artículo 6, apartados 2 y 3, durante todo ese tiempo y que la zona infestada no se ha utilizado como pasto permanente; y
 - no se han detectado signos de infección por la plaga especificada en dos bioensayos, como se describe en el punto 3, con cultivares de patata sensibles; o
 - no se han descubierto signos de infección por la plaga especificada en un bioensayo, como se describe en el punto 3, con cultivares de patata sensibles y no se han encontrado esporas latentes viables durante un examen directo por microscopio del suelo de la zona infestada tras una extracción de esporas con uno de los métodos establecidos en el punto 2 del anexo I.

El régimen que se utilizará para obtener el suelo para el ensayo incluirá todas las etapas siguientes:

- la zona infestada se dividirá en unidades de 0,33 ha;
- se tomarán 60 submuestras de cada unidad de una profundidad de hasta 20 cm, distribuidas uniformemente por toda la zona o acumuladas según los focos de infestación conocidos;
- las submuestras se mezclarán a fondo para obtener 3 muestras por ha.

2. Revocación parcial de las medidas

Transcurrido un mínimo de 10 años desde la última detección de la plaga especificada en áreas de la zona infestada, podrá considerarse la revocación parcial de las medidas establecidas en el artículo 6 para estas zonas cuando exista un registro ininterrumpido de cultivos que muestre que se han cumplido las disposiciones del artículo 6, apartados 2 y 3, durante todo ese tiempo y que la zona infestada no se ha utilizado como pasto permanente; y:

- a) no se hayan detectado signos de infección por la plaga especificada en dos bioensayos, como se describe en el punto 3, con cultivares de patata sensibles, o
- b) no se hayan descubierto signos de infección por la plaga especificada en un bioensayo (como se describe en el punto 3) con cultivares de patata sensibles y se hayan encontrado menos de 5 esporas latentes viables por gramo de suelo durante un examen directo por microscopio del suelo de la zona infestada tras una extracción de esporas con uno de los métodos establecidos en el punto 2 del anexo I.

El régimen que se utilizará para obtener el suelo para el ensayo incluirá todas las etapas siguientes:

- la zona infestada se dividirá en unidades de 0,33 ha;
- se tomarán 60 submuestras de cada unidad de una profundidad de hasta 20 cm, distribuidas uniformemente por toda la zona o acumuladas según los focos de infestación conocidos;
- las submuestras se mezclarán a fondo para obtener 3 muestras por ha.

Si no se cumplen estas condiciones, la revocación parcial de las medidas podrá reconsiderarse tras un período de espera mínimo de 2 años. A la hora de determinar la duración de dicho período de espera, los Estados miembros tendrán en cuenta el nivel de infección y/o el número de esporas viables detectadas.

3. **Bioensayos a efectos de la revocación de las medidas**

Se incubarán varios tubérculos de los vegetales especificados en macetas junto con al menos 5 litros de suelo en condiciones de temperatura, humedad y luz favorables al crecimiento de la patata. Se utilizará un cultivar altamente sensible a todos los patotipos (como Deodara, Evora, Morene, Tomensa, Maritiema o Arran Chief).

Los vegetales de patata en crecimiento se cortarán cuando alcancen una altura de aproximadamente 60 cm. Al cabo de unos 100 días se examinará la presencia de verrugas en los tubérculos de nueva formación.

En la prueba siempre deberán incluirse controles negativos del suelo libre de la plaga especificada y controles positivos del suelo infestado. La prueba se considerará válida si se producen verrugas en tubérculos del control positivo y no se producen verrugas en tubérculos del control negativo. Se registrarán las condiciones de temperatura y humedad del invernadero. Se examinarán las verrugas producidas al microscopio para detectar la presencia de esporangios de verano y/o esporas latentes.

La prueba en su totalidad se llevará a cabo en condiciones que impidan una mayor propagación de la plaga especificada.
