Anexa nr. 4

la Norma privind producerea, controlul,

certificarea şi comercializarea materialului

de înmulţire şi de plantare fructifer

**METODE**

**de testare a materialului de înmulţire şi de plantare fructifer,**

**de analiză a solului şi măsuri de prevenire a reinfectării**

Testarea materialului de înmulţire şi de plantare fructifer la prezenţa virozelor.

Schema de certificare a materialului de plantare sănătos prevede următoarele metode de testare:

de laborator;

de seră;

de cîmp.

1.1.Metodele de testare de laborator.

Metodele de testare de laborator includ:

metode imunologice moderne ale analizei imunoenzimatice (ELISA) şi microscopiei imunoelectronice (MIE);

metode moleculare genetice de depistare a virusurilor cu utilizarea reacţiei în lanţ a polimerazei (PCR).

Metodele enumerate sînt utilizate la depistarea virusurilor mecanic-transmisibile ale culturilor fructifere, atît la obţinerea plantelor devirozate, cît şi la retestarea plantaţiilor-mamă pe parcursul exploatării.

Maladiile provocate de fitoplasme sînt diagnosticate pe secţiuni semifine şi ultrafine cu cercetarea ulterioară prin metodele microscopiei fluorescente şi electronice.

Plantele iniţiale, selectate ca rezultat al testării prin metode de laborator la lipsa virusurilor mecanic-transmisibile se clasifică drept „Testate la virusuri”.

1.2. Metodele de testare de seră.

Metodele de testare de seră prevăd verificarea probelor de culturi fructifere la prezenţa virozelor şi bolilor similare lor cu utilizarea plantelor indicatoare anuale, bienale şi perene (specificate la pct. 4 al prezentei anexe).

Testarea cu infectarea plantelor-indicatoare ierbacee de un an se efectuează prin mărunţirea definitivă a frunzelor acestora cu extractul mugurilor îmbobociţi, a ţesuturilor petalelor, a frunzelor sau a  lăstarilor în creştere ai probelor cercetate. Rezultatele obţinute în baza observaţiilor şi testării sînt conforme în a 7-a şi a 24-a zi de la infectare.

Testarea prin utilizarea puieţilor de piersic este utilizată la obţinerea clonelor devirozate ale culturilor sîmburoase. Pentru aceasta, pe puieţii sănătoşi ai soiurilor culturale de piersic (soiul Elberta sau GF-305), crescuţi în condiţii de seră în ghiveciuri, la vîrsta de 60 de zile se altoiesc 2-3 muguri sau porţiuni de scoarţă ale mostrei cercetate. Vîrfurile puieţilor se înlătură. Se altoiesc cîte 3 puieţi pentru fiecare mostră. Rezultatele, observaţiile şi testarea se aplică după 3-4 luni de la infectare.

Testarea culturilor bacifere se efectuează în baza soiurilor – indicatoare ale acestor culturi. Pentru aceasta, de pe lăstarul indicatorului se separă scoarţa cu dimensiunile 2 x 20 mm. În acest loc se aplică lăstarul soiului cercetat cu scoarţa separată de dimensiuni identice şi se bandajează strîns cu peliculă. Partea posterioară a lăstarului soiului cercetat se plasează în eprubete  cu apă. Rezultatele, observaţiile şi testarea se aplică la a 30-45-a zi de la infectare.

Soiurile care  nu  manifestă simptome de viroze la plantele-indicatori sînt clasificate ca  „Libere de  virusuri”.

Testarea căpşunului se efectuează pe clone diferite de *Fragaria vesca*  şi pe soiurile de căpşun specificate în pct. 4 la prezenta anexă. Indexarea  se efectuează prin  altoirea porţiunii medii a frunzei soiului testat în locul porţiunii medii lichidate a frunzei plantei-indicator. Se utilizează cîte 3 indicatori pentru fiecare mostră. Evidenţa simptomelor se consemnează la 2-3 săptămîni după altoire. Plantele care, după altoire, nu manifestă simptome la indicator sînt clasificate ca „Libere de virusuri”.

1.3. Testarea în cîmp.

Toate soiurile şi portaltoaiele culturilor fructifere care, în urma analizelor ELISA, MIE, PCR şi a testelor prin indicatorii ierbacei şi puieţii de piersic au manifestat rezultate negative, sînt supuse testării de bază. Aceasta se efectuează în pepiniera specială de testare prin metoda altoirii duble sau prin infectarea în masă a indicatorilor lemnoşi. În acest scop, pe planta-indicator de un an, altoită pe puieţi liberi de virusuri sau pe portaltoaie vegetative, se altoiesc cîte 4-6 muguri sau porţiuni de scoarţă ale probei cercetate. Fiecare probă este altoită pe 3 plante-indicator plus o plantă-indicator neinfectată. În cazul în care testarea este efectuată prin metoda altoirii duble pe puieţi liberi de viroze sau pe portaltoi clonal, la 5-7 cm înălţime, se altoieşte mugurele indicatorului. Peste o săptămînă, mai jos de mugurele indicator, se altoieşte mugurele probei cercetate. Pentru fiecare probă se altoiesc 4-5 puieţi plus un puiet-indicator neinfectat în calitate de martor.

Termenele testării – de la 1,5 ani (depistarea simptomelor pe frunze) pînă la 2 recolte pentru indexarea la viroze şi boli similare care afectează fructele.

La testul de bază se depistează toate virozele şi bolile similare cunoscute la culturile fructifere la momentul actual. Soiurile şi portaltoaiele care nu provoacă simptome la testarea de bază sînt calificate ca „Libere de virusuri”.

Lista indicatorilor lemnoşi şi a virozelor şi bolilor similare lor depistate sînt specificate la pct. 4 al prezentei anexe.

2. Testarea solului la prezenţa nematozilor – vectori ai virusurilor.

Analiza solului la prezenţa nematozilor-vectori ai virusurilor se efectuează primăvara sau toamna pe loturile destinate înfiinţării plantaţiilor-mamă ale culturilor sîmburoase, bacifere, căpşunului, precum şi pe loturile destinate creşterii puieţilor şi pomilor altoiţi de culturi sîmburoase, materialului de categorie biologică „Bază” sau „Certificat”.

Prelevarea şi analiza probelor de sol se efectuează de către laboratoarele acreditate. Pentru 1ha se testează 5 probe de sol. Pentru aceasta, de pe fiecare hectar sînt prelevate 25 de probe, recoltate uniform de pe sectorul cercetat. Fiecare probă este colectată la adîncimile de 20, 40 şi 60 cm. Masa totală a probelor este de 400-500g. Ulterior, cele 5 probe se adună, formînd o probă comună. Fiecare probă este plasată într-o pungă de polietilenă, este etichetată, specificîndu-se furnizorul, amplasarea şi suprafaţa lotului. Probele se păstrează la rece şi se prezintă pentru analize în termen de 48 ore. Suprafaţa cercetată  include  şi zona de asigurare de 10 m pe perimetru.

3. Măsurile de prevenire a reinfectării.

Pentru întreţinerea şi multiplicarea clonelor fitosanitar sănătoase, este necesară adoptarea unui set de măsuri pentru prevenirea reinfectării cu viroze, fitoplasme,  cancer bacterian şi alte boli periculoase specificate în anexele nr. 3 şi nr.6 la prezenta Normă. Astfel, în scopuri profilactice, este importantă:

neadmiterea prezenţei afidelor, cicadelor şi a altor insecte-vectori ai virusurilor şi ai fitoplasmelor  în plantaţiile devirozate;

întreţinerea solului în plantaţiile-mamă de ramuri-altoi şi seminceri libere de virusuri ca ogor negru sau ca teren înierbat;

fondarea plantaţiilor-mamă devirozate cu respectarea izolării spaţiale de plantaţiile necertificate;

efectuarea anuală a tăierilor scurte la speciile culturilor sîmburoase destinate producerii de ramuri-altoi cu lichidarea obligatorie a mugurilor florali (cu excepţia anilor cînd este planificată autentificarea şi stabilirea purităţii varietale a acestor plante);

plantarea culturilor sîmburoase, bacifere şi a căpşunului pe loturi libere de nematozi-vectori ai virusurilor;

efectuarea în pepinieră pe parcursul vegetaţiei a examinării vizuale a portaltoaielor din cîmpul I şi a pomilor altoiţi din cîmpul II, pentru evaluarea stării fitosanitare a plantelor;

etichetarea obligatorie a materialului de plantare în cîmpul doi al pepinierei.

Plantele-mamă semincere, libere de virusuri, trebuie să fie înregistrate oficial. Pomii seminceri trebuie să fie retestaţi anual prin metode de laborator la prezenţa virozelor transmisibile prin seminţe. De preferinţă, seminţele speciilor sîmburoase, îndeosebi pentru *Prunus avium* şi *Prunus mahaleb* (la care două virusuri de bază se transmit prin polen, cu o rată a transmiterii foarte înaltă), se recoltează separat, pe loturi.

Termenul de exploatare a pomilor care au ca destinaţie producerea de seminţe este de 10 - 12 ani.

În scopul limitării răspîndirii cancerului bacterian la producerea materialului de plantare fructifer, inspectorii organismului oficial responsabil efectuează un control strict în plantaţiile-mamă şi în cîmpurile de formare ale pepinierelor.

În plantaţiile-mamă de categoria „Bază” şi „Certificat”, se controlează portaltoaiele vegetative şi generative ale culturilor pomicole şi bacifere. Aceste controale se fac prin examinare vizuală, efectuate în timpul colectării marcotelor, studiindu-se 100 din 10000 de plante.

În cazul depistării simptomelor vizibile de cancer bacterian la peste 0,1% din plantele studiate, plantaţiile-mamă nu se certifică. Dacă numărul plantelor infectate se situează între 0 şi 0,1%, marcotele se prelucrează, pentru profilaxie, cu preparate antitumorice primăvara, înainte de plantare.

Pomii altoiţi, butaşii de coacăz şi agriş de categoria „Certificat” şi „Obişnuit”, destinaţi înfiinţării plantaţiilor de producere a fructelor şi puieţii destinaţi producerii pomilor altoiţi sînt examinaţi vizual în timpul scoaterii lor, pentru depistarea simptomelor vizibile de cancer bacterian.

Dacă numărul de pomi infectaţi depăşeşte 1%, materialul săditor nu este certificat şi nu se comercializează.

Dacă numărul plantelor infectate se situează între 0 şi 1%, puieţii altoiţi fără simptome vizibile, primăvara, înainte de plantare, se prelucrează pentru profilaxie cu preparate antitumorice.

Toate plantele cu simptome vizibile de cancer bacterian sînt lichidate.

Importul şi exportul materialului de înmulţire şi plantare fructifer cu semne vizibile de cancer bacterian nu trebuie autorizat.

4. Indicatorii utilizaţi pentru evidenţierea bolilor speciilor fructifere:

|  |  |
| --- | --- |
| **Indicatorii** | **Bolile evidenţiate** |
| **Măr** | |
| *Malus pumila Lord Lamdourne* | Mozaicul mărului |
| *Malus platycarpa, R 12740/7A* | Pătarea clorotică a frunzelor la măr |
| *Malus platycarpa* | Piticirea la Platycarpa sau rugozitatea scoarţei la Platycarpa |
| *Malus sylvestris Virginia crab* | Brăzdarea tulpinii mărului |
| *Malus sylvestris Spy 227,Malus Virginia crab, Pyronia veitchii* | Strierea tulpinii mărului |
| *Lord Lambourne* | Mere mici |
| *Malus pumila Golden Delicious* | Vericozitatea ruginie a merelor |
| *Golden Delicious* | Crăparea stelată a merelor |
| *Golden Delicious* | Deformarea verde a merelor |
| *Golden Delicious* | Pătarea inelară a merelor |
| *Golden Delicious* | Proliferarea mărului |
| *Lord Lambourne* | Flexibilitatea patologică a lemnului la măr |
| **Păr şi gutui** | |
| *Pyrus communis Beurre hardy,*  *Cydonia oblonga C 7/1* | Mozaicul inelar la păr, nanifierea gutuiului |
| *Beurre hardy* | Necrozarea scoarţei părului |
| *Beurre hardy* | Crăparea scoarţei părului |
| *Pyrus communis Williams* | Cancerul pustulos al părului |
| *Williams* | Rugozitatea scoarţei părului |
| *Beurre Rosc, Beurre hardy, Pyronia veitchii* | Pietrificarea fructelor la păr |
| *Cydonia oblonga C 7/1* | Pătarea inelară neagră a gutuiului |
| *Cydonia oblonga C 7/1* | Pătarea galbenă a gutuiului |
| *Virginia crab, Pyrus veitchii* | Strierea tulpinii la păr, îngălbenirea nervurilor la păr, pătarea roşie a frunzelor la păr |
| *Pyrus veitchii* | Declinul părului |
| *Lord Lambourne* | Flexibilitatea patologică a lemnului la păr |
| **Cireş şi vişin** | |
| *Prunus persica, GF-305* | Mozaicul mărului |
| *Prunus persica, GF-305* | Pătarea clorotică a frunzelor la măr |
| *Prunus serrulata Shirofugen* | Pătarea inelară necrotică |
| *Prunus serrulata Shirofugen, Prunus avium Bing* | Pătarea inelară clorotică |
| *Prunus persica, GF-305* | Răsucirea frunzelor la cireş |
| *Prunus serrulata Kwanzan* | Marmorarea inelară verde a vişinului |
| *Prunus persica,GF-305,Prunus avium Bing,*  *Chenopodium quinoa* | Rugozitatea europeană a cireşului |
| *Prunus avium Sam, Mazzard f-12/1* | Nanismul fructelor de cireş |
| *Prunus persica, GF-305* | Pătarea în benzi a cireşului |
| *Prunus persica,* | Strierea tulpinii |
| *Prunus persica, Prunus virginiana* | Boala x de vest a cireşului |
| *Prunus persica,GF-305,Prunus avium Bing, Chenopodium quinoa* | Mozaicul virotic „Arabic” |
| *Prunus persica,GF-305, Prunus avium Bing, Sam, Chenopodium quinoa* | Marmorarea frunzelor la cireş |
| *Prunus persica,GF-305,Prunus avium Bing,*  *Chenopodium quinoa* | Pătarea neagră inelară a tomatelor |
| **Prun, cais, piersic şi migdal** | |
| *Prunus persica,GF-305,*  *Prunus tomentosa, Malus platycarpa* | Pătarea clorotică a frunzelor la măr, vărsatul fals al prunului |
| *Tuleu dulce* | Vărsatul prunului |
| *Prunus persica,* | Piticirea prunului |
| *Prunus persica,GF- 305* | Pătarea inelară necrotică |
| *Prunus persica, GF- 305* | Mozaicul mărului |
| *Prunus persica,GF-305,Prunus avium Bing,*  *Chenopodium quinoa* | Pătarea neagră inelară a tomatelor |
| *Chenopodium quinoa* | Pătarea inelară latentă a căpşunului |
| *Prunus persica,GF-305* | Mozaicul în benzi |
| **Căpşun** | |
| *Fragaria vesca UC 4, UC 5, UC 6* | Marmorarea căpşunului |
| *UC 4, UC 5, UC 6* | Zbîrcirea căpşunului |
| *UC 4, UC 5, UC 6,* | Îngălbenirea slabă a marginilor la frunze |
| *UC 6, Fragaria virginiana UC 12* | Mozaicul în bandă al nervurilor |
| *Chenopodium quinoa* | Mozaicul virotic „Arabic” |
| *Chenopodium quinoa* | Pătarea inelară virotică latentă a căpşunului |
| *Chenopodium quinoa* | Pătarea neagră inelară a tomatelor |
| *Chenopodium quinoa* | Pătarea inelară a zmeurului |
| **Zmeur şi mur** | |
| *Crocus sativus, Chenopodium quinoa, Nicotiana clevelandii* | Răsucirea frunzelor la cireş la genul *Rubus* |
| *Crocus sativus, Chenopodium quinoa, Nicotiana clevelandii* | Mozaicul virotic „Arabic” |
| Crocus sativus. Ch*enopodium* quinoa, *Nicotiana*. clevelandii | Pătarea inelară latentă a căpşunului |
| *Crocus sativus, Chenopodium quinoa, Nicotiana clevelandii* | Pătarea inelară a zmeurului |
| *Crocus sativus, Chenopodium quinoa, Nicotiana clevelandii* | Pătarea neagră inelară a tomatelor |
| *Crocus sativus* | Mozaicul castraveţilor |
| *Chenopodium quinoa, Lloid George, Rubus henry* | Piticirea tufoasă a zmeurului |
| *Chenopodium quinoa* | Piticirea galbenă a zmeurului |
| *Rubus occidentalis, Rubus henry* | Mozaicul zmeurului |
| *Rubus occidentalis* | Mozaicul galben în formă de plasă la *Rubus* |
| *Rubus occidentalis, v. Norfolk Giant* | Marmorarea frunzelor şi pătarea frunzelor la zmeur |
| *Rubus occidentalis, Rubus henry* | Necroza murului |
| *Lloid George, Norfolk Giant* | Cloroza nervurilor |
| *Mallig landmark, Norfolk Giant* | Mătura vrăjitoarei, piticirea zmeurului (fitoplasma) |
| **Coacăz şi agriş** | |
| *Chenopodium quinoa, Norfolk clevelandii* | Mozaicul lucernei |
| *Chenopodium quinoa, Norfolk clevelandii* | Mozaicul virotic „Arabic” |
| *Chenopodiumb quinoa, Norfolk clevelandi* | Pătarea inelară latentă a căpşunului |
| *Chenopodium quinoa, Norfolk clevelandii* | Pătarea inelară a zmeurului |
| *Crocus sativus, Norfolk clevelandii, Chenopodium quinoa* | Mozaicul castraveţilor, pătarea verde a coacăzului negru |
| *var.Odjebin, Baldwin* | Reversia coacăzului |
| *var.Baldwin, Amos Black* | Îngălbenirea coacăzului |
| *var.Amos Black, VB1* | Mozaicul în bandă al nervurilor |
| *var.Amos Black* | Marmorarea nervurilor la coacăzul negru |