Br:320/18-0410-4985/5 Datum: 28.12.2018.

**INSTRUKCIJA ZA FITOSANITARNE INSPEKTORE:**

**Pocket® Diagnostic kit za detekciju gljive *Phytophthora* spp.**

***Phytophthora*** spp. je značajna patogena gljiva koja inficira brojne biljke domaćine.

Gljiva se može širiti premještanjem inficiranog biljnog materijala, inficiranim zemljištem, vodom ili oruđem. Takođe, može se širiti kišnim kapima i vazdušnim sporama koje mogu preživjeti u biljnim ostacima i zemljištu mnogo godina.



Simptom na rhododendronu inficiran sa *P. ramorum*

Simptom na listu rhododendrona inficiran sa *P. ramorum*

Simptom na listu kestena inficiran sa *P. ramorum*

Spisak biljaka domaćina ***Phytophthora ramorum***

|  |  |
| --- | --- |
| [*Abies alba (ABIAL)*](https://gd.eppo.int/taxon/ABIAL) | Incidental |
| [*Abies concolor (ABICO)*](https://gd.eppo.int/taxon/ABICO) | Incidental |
| [*Abies grandis (ABIGR)*](https://gd.eppo.int/taxon/ABIGR) | Incidental |
| [*Abies magnifica (ABIMA)*](https://gd.eppo.int/taxon/ABIMA) | Incidental |
| [*Abies procera (ABIPR)*](https://gd.eppo.int/taxon/ABIPR) | Incidental |
| [*Acer circinatum (ACRCJ)*](https://gd.eppo.int/taxon/ACRCJ) | Minor |
| [*Acer davidii (ACRDA)*](https://gd.eppo.int/taxon/ACRDA) | Minor |
| [*Acer laevigatum (ACRLA)*](https://gd.eppo.int/taxon/ACRLA) | Minor |
| [*Acer macrophyllum (ACRMA)*](https://gd.eppo.int/taxon/ACRMA) | Minor |
| [*Acer pseudoplatanus (ACRPP)*](https://gd.eppo.int/taxon/ACRPP) | Minor |
| [*Adiantum jordanii (ADIJO)*](https://gd.eppo.int/taxon/ADIJO) | Minor |
| [*Adiantum pedatum (ADIPE)*](https://gd.eppo.int/taxon/ADIPE) | Minor |
| [*Aesculus hippocastanum (AECHI)*](https://gd.eppo.int/taxon/AECHI) | Minor |
| [*Arbutus menziesii (ARDME)*](https://gd.eppo.int/taxon/ARDME) | Minor |
| [*Arbutus unedo (ARDUN)*](https://gd.eppo.int/taxon/ARDUN) | Minor |
| [*Arctostaphylos manzanita (ARYMA)*](https://gd.eppo.int/taxon/ARYMA) | Minor |
| [*Arctostaphylos uva-ursi (ARYUU)*](https://gd.eppo.int/taxon/ARYUU) | Minor |
| [*Ardisia japonica (ADAJA)*](https://gd.eppo.int/taxon/ADAJA) | Minor |
| [*Betula pendula (BETPE)*](https://gd.eppo.int/taxon/BETPE) | Minor |
| [*Calluna vulgaris (CUNVU)*](https://gd.eppo.int/taxon/CUNVU) | Minor |
| [*Calycanthus occidentalis (CALOC)*](https://gd.eppo.int/taxon/CALOC) | Minor |
| [*Camellia (1CAHG)*](https://gd.eppo.int/taxon/1CAHG) | Minor |
| [*Castanea sativa (CSNSA)*](https://gd.eppo.int/taxon/CSNSA) | Minor |
| [*Castanopsis orthacantha (CSOOR)*](https://gd.eppo.int/taxon/CSOOR) | Minor |
| [*Ceanothus thyrsiflorus (CEATH)*](https://gd.eppo.int/taxon/CEATH) | Minor |
| [*Cercis chinensis (CCSCH)*](https://gd.eppo.int/taxon/CCSCH) | Minor |
| [*Chamaecyparis lawsoniana (CHCLA)*](https://gd.eppo.int/taxon/CHCLA) | Incidental |
| [*Chamerion angustifolium (CHAAN)*](https://gd.eppo.int/taxon/CHAAN) | Wild/Weed |
| [*Choisya ternata (COATE)*](https://gd.eppo.int/taxon/COATE) | Minor |
| [*Cinnamomum camphora (CINCA)*](https://gd.eppo.int/taxon/CINCA) | Incidental |
| [*Clintonia andrewsiana (CJXAN)*](https://gd.eppo.int/taxon/CJXAN) | Minor |
| [*Cornus capitata (CRWCP)*](https://gd.eppo.int/taxon/CRWCP) | Minor |
| [*Cornus kousa (CRWKO)*](https://gd.eppo.int/taxon/CRWKO) | Minor |
| [*Corylopsis spicata (CYVSP)*](https://gd.eppo.int/taxon/CYVSP) | Minor |
| [*Corylus cornuta (CYLCR)*](https://gd.eppo.int/taxon/CYLCR) | Minor |
| [*Distylium myricoides (DSYMY)*](https://gd.eppo.int/taxon/DSYMY) | Minor |
| [*Drimys winteri (DRIWI)*](https://gd.eppo.int/taxon/DRIWI) | Minor |
| [*Dryopteris arguta (DYOAR)*](https://gd.eppo.int/taxon/DYOAR) | Minor |
| [*Epilobium ciliatum subsp. watsonii (EPIAC)*](https://gd.eppo.int/taxon/EPIAC) | Wild/Weed |
| [*Eucalyptus denticulata (EUCDN)*](https://gd.eppo.int/taxon/EUCDN) | Incidental |
| [*Eucalyptus haemastoma (EUCHS)*](https://gd.eppo.int/taxon/EUCHS) | Minor |
| [*Eucalyptus regnans (EUCRE)*](https://gd.eppo.int/taxon/EUCRE) | Incidental |
| [*Fagus sylvatica (FAUSY)*](https://gd.eppo.int/taxon/FAUSY) | Minor |
| [*Frangula californica (RHACA)*](https://gd.eppo.int/taxon/RHACA) | Minor |
| [*Frangula purshiana (RHAPU)*](https://gd.eppo.int/taxon/RHAPU) | Minor |
| [*Fraxinus excelsior (FRXEX)*](https://gd.eppo.int/taxon/FRXEX) | Minor |
| [*Fraxinus latifolia (FRXLA)*](https://gd.eppo.int/taxon/FRXLA) | Minor |
| [*Garrya elliptica (GAREL)*](https://gd.eppo.int/taxon/GAREL) | Minor |
| [*Gaultheria procumbens (GAHPR)*](https://gd.eppo.int/taxon/GAHPR) | Minor |
| [*Gaultheria shallon (GAHSH)*](https://gd.eppo.int/taxon/GAHSH) | Minor |
| [*Griselinia littoralis (GRSLI)*](https://gd.eppo.int/taxon/GRSLI) | Minor |
| [*Hamamelis mollis (HAMMO)*](https://gd.eppo.int/taxon/HAMMO) | Minor |
| [*Hamamelis virginiana (HAMVI)*](https://gd.eppo.int/taxon/HAMVI) | Minor |
| [*Ilex aquifolium (ILEAQ)*](https://gd.eppo.int/taxon/ILEAQ) | Minor |
| [*Ilex latifolia (ILELF)*](https://gd.eppo.int/taxon/ILELF) | Minor |
| [*Isopogon formosus (IXOFO)*](https://gd.eppo.int/taxon/IXOFO) | Incidental |
| [*Kalmia angustifolia (KAMAN)*](https://gd.eppo.int/taxon/KAMAN) | Minor |
| [*Larix decidua (LAXDE)*](https://gd.eppo.int/taxon/LAXDE) | Minor |
| [*Larix kaempferi (LAXLE)*](https://gd.eppo.int/taxon/LAXLE) | Major |
| [*Laurus nobilis (LURNO)*](https://gd.eppo.int/taxon/LURNO) | Minor |
| [*Leucothoe axillaris (LUTAX)*](https://gd.eppo.int/taxon/LUTAX) | Minor |
| [*Leucothoe fontanesiana (LUTFO)*](https://gd.eppo.int/taxon/LUTFO) | Minor |
| [*Lithocarpus densiflorus (LIADF)*](https://gd.eppo.int/taxon/LIADF) | Major |
| [*Lithocarpus glaber (LIAGL)*](https://gd.eppo.int/taxon/LIAGL) | Minor |
| [*Lonicera hispidula (LONHS)*](https://gd.eppo.int/taxon/LONHS) | Minor |
| [*Magnolia acuminata (MAGAC)*](https://gd.eppo.int/taxon/MAGAC) | Minor |
| [*Magnolia delavayi (MAGDE)*](https://gd.eppo.int/taxon/MAGDE) | Minor |
| [*Magnolia denudata (MAGDN)*](https://gd.eppo.int/taxon/MAGDN) | Minor |
| [*Magnolia doltsopa (MIADO)*](https://gd.eppo.int/taxon/MIADO) | Minor |
| [*Magnolia figo (MIAVI)*](https://gd.eppo.int/taxon/MIAVI) | Minor |
| [*Magnolia grandiflora (MAGGR)*](https://gd.eppo.int/taxon/MAGGR) | Minor |
| [*Magnolia insignis (MGTIN)*](https://gd.eppo.int/taxon/MGTIN) | Minor |
| [*Magnolia kobus (MAGKO)*](https://gd.eppo.int/taxon/MAGKO) | Minor |
| [*Magnolia maudiae (MAGMD)*](https://gd.eppo.int/taxon/MAGMD) | Minor |
| [*Magnolia salicifolia (MAGSA)*](https://gd.eppo.int/taxon/MAGSA) | Minor |
| [*Magnolia stellata (MAGST)*](https://gd.eppo.int/taxon/MAGST) | Minor |
| [*Magnolia x soulangeana (MAGSO)*](https://gd.eppo.int/taxon/MAGSO) | Minor |
| [*Mahonia aquifolium (MAHAQ)*](https://gd.eppo.int/taxon/MAHAQ) | Minor |
| [*Maianthemum racemosum (SMLRA)*](https://gd.eppo.int/taxon/SMLRA) | Minor |
| [*Nerium oleander (NEROL)*](https://gd.eppo.int/taxon/NEROL) | Minor |
| [*Nothofagus obliqua (NOFOB)*](https://gd.eppo.int/taxon/NOFOB) | Minor |
| [*Osmanthus decorus (OSUDC)*](https://gd.eppo.int/taxon/OSUDC) | Minor |
| [*Osmanthus delavayi (OSUDE)*](https://gd.eppo.int/taxon/OSUDE) | Minor |
| [*Osmanthus fragrans (OSUFR)*](https://gd.eppo.int/taxon/OSUFR) | Minor |
| [*Osmanthus heterophyllus (OSUHE)*](https://gd.eppo.int/taxon/OSUHE) | Minor |
| [*Osmorhiza berteroi (OMRBE)*](https://gd.eppo.int/taxon/OMRBE) | Minor |
| [*Parrotia persica (PTTPE)*](https://gd.eppo.int/taxon/PTTPE) | Minor |
| [*Photinia arbutifolia (PHNAR)*](https://gd.eppo.int/taxon/PHNAR) | Minor |
| [*Photinia x fraseri (PHNFR)*](https://gd.eppo.int/taxon/PHNFR) | Minor |
| [*Physocarpus (1PHPG)*](https://gd.eppo.int/taxon/1PHPG) | Minor |
| [*Picea sitchensis (PIESI)*](https://gd.eppo.int/taxon/PIESI) | Incidental |
| [*Pieris floribunda (PIRFL)*](https://gd.eppo.int/taxon/PIRFL) | Minor |
| [*Pieris formosa (PIRFO)*](https://gd.eppo.int/taxon/PIRFO) | Minor |
| [*Pieris japonica (PIRJA)*](https://gd.eppo.int/taxon/PIRJA) | Minor |
| [*Pittosporum undulatum (PTUUN)*](https://gd.eppo.int/taxon/PTUUN) | Minor |
| [*plants (2PLAN)*](https://gd.eppo.int/taxon/2PLAN) | Minor |
| [*Prunus laurocerasus (PRNLR)*](https://gd.eppo.int/taxon/PRNLR) | Minor |
| [*Prunus lusitanica (PRNLU)*](https://gd.eppo.int/taxon/PRNLU) | Minor |
| [*Pseudotsuga menziesii (PSTME)*](https://gd.eppo.int/taxon/PSTME) | Minor |
| [*Pteris cretica (PTJCR)*](https://gd.eppo.int/taxon/PTJCR) | Wild/Weed |
| [*Pyracantha koidzumii (PYEKO)*](https://gd.eppo.int/taxon/PYEKO) | Minor |
| [*Quercus (1QUEG)*](https://gd.eppo.int/taxon/1QUEG) | Minor |
| [*Quercus acuta (QUEAC)*](https://gd.eppo.int/taxon/QUEAC) | Minor |
| [*Quercus agrifolia (QUEAG)*](https://gd.eppo.int/taxon/QUEAG) | Minor |
| [*Quercus cerris (QUECE)*](https://gd.eppo.int/taxon/QUECE) | Minor |
| [*Quercus chrysolepis (QUECH)*](https://gd.eppo.int/taxon/QUECH) | Minor |
| [*Quercus falcata (QUEFC)*](https://gd.eppo.int/taxon/QUEFC) | Minor |
| [*Quercus ilex (QUEIL)*](https://gd.eppo.int/taxon/QUEIL) | Minor |
| [*Quercus kelloggii (QUEKE)*](https://gd.eppo.int/taxon/QUEKE) | Minor |
| [*Quercus parvula var. shrevei (QUEPS)*](https://gd.eppo.int/taxon/QUEPS) | Minor |
| [*Quercus petraea (QUEPE)*](https://gd.eppo.int/taxon/QUEPE) | Minor |
| [*Quercus phillyraeoides (QUEPI)*](https://gd.eppo.int/taxon/QUEPI) | Minor |
| [*Quercus robur (QUERO)*](https://gd.eppo.int/taxon/QUERO) | Minor |
| [*Quercus rubra (QUERU)*](https://gd.eppo.int/taxon/QUERU) | Minor |
| [*Rhododendron (1RHOG)*](https://gd.eppo.int/taxon/1RHOG) | Major |
| [*Rhododendron ponticum (RHOPO)*](https://gd.eppo.int/taxon/RHOPO) | Major |
| [*Rhus diversiloba (RHUDI)*](https://gd.eppo.int/taxon/RHUDI) | Minor |
| [*Ribes laurifolium (RIBLF)*](https://gd.eppo.int/taxon/RIBLF) | Minor |
| [*Rosa gymnocarpa (ROSGY)*](https://gd.eppo.int/taxon/ROSGY) | Minor |
| [*Rosa rugosa (ROSRG)*](https://gd.eppo.int/taxon/ROSRG) | Minor |
| [*Rubus spectabilis (RUBSP)*](https://gd.eppo.int/taxon/RUBSP) | Minor |
| [*Salix caprea (SAXCP)*](https://gd.eppo.int/taxon/SAXCP) | Minor |
| [*Schima argentea (SHMAR)*](https://gd.eppo.int/taxon/SHMAR) | Minor |
| [*Schima wallichii (SHMWA)*](https://gd.eppo.int/taxon/SHMWA) | Minor |
| [*Sequoia sempervirens (SEQSE)*](https://gd.eppo.int/taxon/SEQSE) | Minor |
| [*Syringa vulgaris (SYRVU)*](https://gd.eppo.int/taxon/SYRVU) | Minor |
| [*Taxus baccata (TAXBA)*](https://gd.eppo.int/taxon/TAXBA) | Minor |
| [*Taxus brevifolia (TAXBR)*](https://gd.eppo.int/taxon/TAXBR) | Minor |
| [*Taxus x media (TAXME)*](https://gd.eppo.int/taxon/TAXME) | Minor |
| [*Torreya californica (TOYCA)*](https://gd.eppo.int/taxon/TOYCA) | Minor |
| [*Tsuga heterophylla (TSUHE)*](https://gd.eppo.int/taxon/TSUHE) | Minor |
| [*Umbellularia californica (UMBCA)*](https://gd.eppo.int/taxon/UMBCA) | Major |
| [*Vaccinium intermedium (VACIN)*](https://gd.eppo.int/taxon/VACIN) | Minor |
| [*Vaccinium myrtillus (VACMY)*](https://gd.eppo.int/taxon/VACMY) | Minor |
| [*Vaccinium ovatum (VACOV)*](https://gd.eppo.int/taxon/VACOV) | Minor |
| [*Vaccinium vitis-idaea (VACVI)*](https://gd.eppo.int/taxon/VACVI) | Minor |
| [*Vancouveria planipetala (VAVPL)*](https://gd.eppo.int/taxon/VAVPL) | Minor |
| [*Viburnum (1VIBG)*](https://gd.eppo.int/taxon/1VIBG) | Major |

Pocket® Diagnostic *Phytophthora* test je opšti, tako da može prepoznati sve vrste roda *Phytophthora.*

Dalji dijagnostički testovi za identifikaciju *Phytophthora* vrsta su nephodni.

Širok spektar biljnog materijala može biti testiran i zbog jednostavnosti, tipovi materijala mogu se podijeliti na „tvrde“, „meke“ i „korijenaste“.

Testiranje trebalo bi sprovoditi, što je prije moguće, na osnovu vidljivih simptoma.

Korišćenje Pocket® Diagnostic *Phytophthora* testa je jednostavno.

Ali, kao i sa bilo kojom test procedurom, važno je obratiti pažnju na detalje.

**Izvođenje testa:**

**„Tvrdi“ uzorci (kora, drvo, debeli listovi kao što je Rhododendron)**

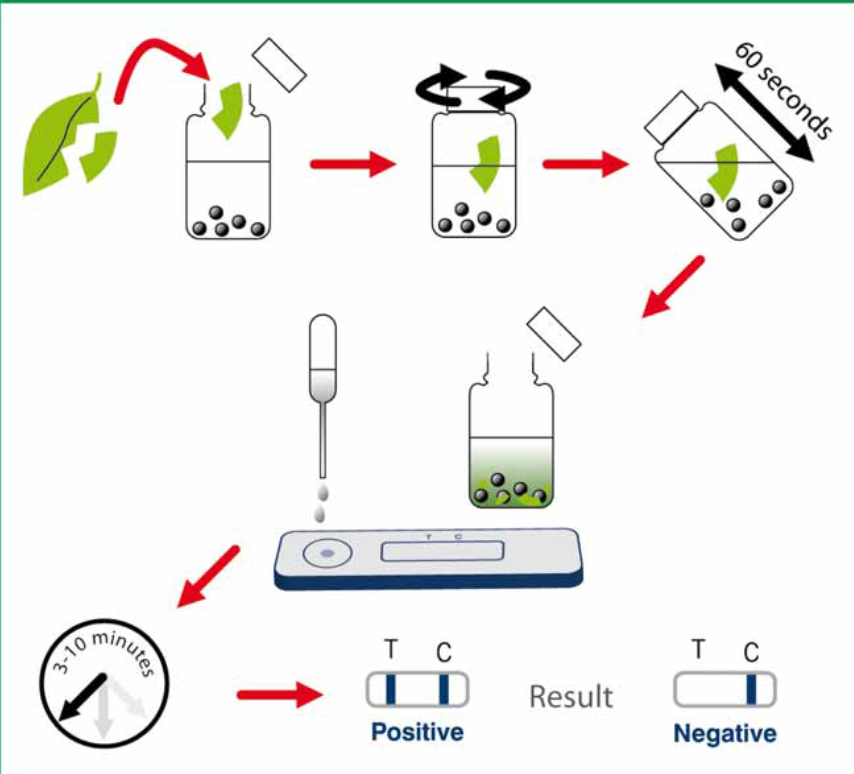
* Uzorke kore i drveta uzimati uz pomoć oštrog sečiva (skalpela), uklanjanjem spoljašnje kore do unutrašnje meke kore;
* Pokušati uzeti uzorak na prelazu zdravog i boljesnog tkiva;
* Kada se testiraju velike biljke, kao što je drveće, vršiti odvojeno testiranje uzoraka iz različitih biljnih djelova, uključujući korijen gdje je to moguće;
* Koristiti približno 0.2gr biljnog materijala (koristiti samo malu količinu uzorka). Korišćenje previše biljnog materijala može zaustaviti rad testa;
* Uzorke kore i drveta trebalo bi fino isjeći prije dodavanja u ekstrakcionu flašicu;
* Listove sa debelom kurikulom trebalo bi isjeći i zgnječiti prije dodavanja u ekstrakcionu flašicu;
* Flašicu snažno protresti najmanje 60 sekundi kako bi se postigla maksimalna ekstrakcija uzorka.

**„Meki“ uzorci (listovi, cvjetovi, plodovi)**

* Koristiti približno 25 mm lisne površine i ne više od 5mm stabljike. Korišćenje previše biljnog materijala može zaustaviti rad testa;
* Flašicu snažno protresti najmanje 20 sekundi kako bi se postigla maksimalna ekstrakcija uzorka.

**„Korijenasti“ uzorci**

* Koristiti približno 0.2gr korijena. Korišćenje previše biljnog materijala može zaustaviti rad testa;
* Ukloniti zemlju ili kompost ako je moguće. Ispiranje sa vodom je korisno;
* Mekane uzorke korijena staviti u ekstrakcionu flašicu i protresti najmanje 20-30 sekundi;
* Tvrde uzorke korijena isjeći u sitne djelove i zgnječiti, pa tako pripremljene uzorke staviti u ekstrakcionu flašicu i protresti najmanje 60 sekundi;
* Nekoliko malih uzoraka sa različitih djelova korijena može se koristiti pri čemu se mora voditi računa da ukupna količina biljnog tkiva ne bude veća od propisane.

****

**Generalne informacije za izvođenje testa:**

* Uzeti mali fragmenat biljnog materijala, ako je moguće simptomatskog tkiva uključujući mjesto prelaza zdravog u bolesno tkivo. Ne koristiti mrtva tkiva. Ako se koristi uzorak korijena potrebno ga je isprati vodom, radi odstranjivanja zemlje.
* Protresti flašicu snažno, 30 sekundi (60 sekundi ako je materijal tvrd ili drven), sve dok ekstrakcijski pufer više ne bude bezbojan.
* Izvaditi uređaj za testiranje (pločica) iz folije u kojoj je upakovan i postaviti ga na ravnu površinu sa prozorom za gledanje okrenutim prema gore. Ne dodirivati prozor za gledanje.
* Otvoriti flašicu za ekstrakciju i iz nje izvuci dio tečnosti pomoću pipete. Nježno istisniti 2 ili 3 kapi uzorka tečnosti u bunarčic uređaja za testiranje (pločice). Paziti da se uzorak ne izlije.

**Očitavanje testa:**

* U većini slučajeva rezultati testa su vidljiva nakon 3-4 minuta;
* Plava linija (Kontrolna linija) pojavljuje se pored slova "C" na uređaju (niže, desno). Ova linija potvrđuje da tekst ispravno funkcioniše;
* Pojavljivanje "T" linije na uređaju za testiranje u vremenu od 10 minuta od početka testa, ukazuje da je *Phytophthora* detektovana;
* Ukoliko je prisutan nizak nivo *Phytophthora*, potrebno je duže vremena da se razvije linija „T“ koja ostaje slaba do kraja reakcije testa;
* Ignorisati bilo koju promjenu rezultata koji se javljaju nakon 10 minuta od izvođenja ogleda;
* Ako se „C“ linija nije pojavila to znači da test nije validan.

**Generalna uputstva:**

* Zagrijati kit za tesitanje prije upotrebe, ako je temperatura ispod 10 ° C;
* Ne dodavati više od 3 kapi uzorka u bunarčić uređaja za testiranje. Previše tečnosti može poplaviti membranu i test neće raditi.

Obrađivač: Mr Tamara Popović, načelnica **DIREKTORICA**

Odsjek za zdravstvenu zaštitu bilja

Vesna Daković