

## Metodyka pobierania prób materiału szkółkarskiego do testów laboratoryjnych na obecność wirusów

Roślina testowana: **Leszczyna - *Corylus avellana* L.**

Wirusy:

Wirus mozaiki jabłoni - *Apple mosaic virus* (ApMV)

### Termin pobierania prób

Do testów laboratoryjnych na obecność ApMV próby należy pobierać wiosną. Dopuszczalne, chociaż niezalecane, jest również pobieranie prób latem, pod warunkiem, że przez dwa tygodnie temperatura powietrza nie przekroczyła 25°C.

### Wybór tkanki/części rośliny do testowania

Do testów zalecane jest wykorzystywanie młodych liści pobranych z fragmentu pędu do 2/3 długości od nasady.

### Sposób pobierania prób

**Przy pobieraniu próbek należy kierować się następującymi ogólnymi zasadami:**

1. Jedna próbka powinna pochodzić z jednej rośliny, oznakowanej w sposób umożliwiający indywidualną identyfikację zainfekowanych roślin (*w dalszej części omówiono odstępstwa od tej reguły*).
2. Wskazane jest oznaczenie (zaetykietowanie) roślin, z których pobrano próbki, chyba, że identyfikacja jest możliwa na podstawie istniejącego oznakowania lub szczegółowego planu nasadzenia.
3. Próby należy pobierać do trwale oznakowanych foliowych torebek, zabezpieczając przed nadmiarem wilgoci i wysychaniem (groźniejszy jest nadmiar wilgoci niż wysychanie). Torebki mogą być otwarte tylko, jeżeli będą transportowane

bezpośrednio do laboratorium w sposób, który uniemożliwi zamieszanie prób. W każdym innym przypadku próby należy zabezpieczyć przez zamknięcie torebek. Na czas zbierania i transportu, próby należy zabezpieczyć przed nadmiernym nagrzewaniem przez zacięniowanie. W przypadku wyższych temperatur (powyżej 25°C) zaleca się umieszczenie prób w tzw. lodówce turystycznej, pojemniku styropianowym albo "torbie na mrożonki" z wkładem chłodzącym. Nie dopuszczać do zamrożenia prób! Po dostarczeniu do laboratorium próby należy umieścić w chłodzie (+4°C do +10°C). Próbki mogą być przechowywane w lodówce (chłodni) kilka do kilkunastu dni.

4. Próba powinna być reprezentatywna dla rośliny, tzn.:
  - a) z roślin 4-letnich i młodszych, próbka pobierana jest z maksymalnie czterech różnych pędów, po dwa do czterech liści (pąków) lub mniej tak, aby nie uszkodzić badanej rośliny.
  - b) z roślin 5-letnich i starszych próbka pobierana jest z czterech różnych pędów (z czterech stron krzewu), po dwa do czterech liści.
5. Liście należy pobierać z dolnej i środkowej części pędów.
6. Jeżeli na liściach występują chlorotyczne plamy, należy w pierwszym rzędzie pobrać próbki liści wykazujących podejrzane symptomy.
7. Pobrane próbki należy przekazać do badań laboratoryjnych załączając także "zlecenie na wykonanie badań laboratoryjnych", którego formularz można pobrać ze strony internetowej właściwego miejscowego Wojewódzkiego inspektoratu Ochrony Roślin i Nasiennictwa ([piorin.gov.pl](http://piorin.gov.pl)). Dodatkowo należy sporządzić i przechowywać przez 3 lata kopię "Zlecenia" oraz pisemną informację zawierającą dodatkowe dane, o ile nie zostały podane w "Zleceniu":

Rodzaj uprawy(gatunek, odmiana, ew. typ, wiek roślin)	
Rodzaj pobranego materiału (na przykład: liście, kwiaty)	
Plan (szkic) lub opis umożliwiający jednoznaczne odnalezienie roślin w terenie, z których pobierano próby	
Dodatkowe informacje dotyczące m.in. występowania podejrzanych symptomów, chorób, szkodników, lub rozpoznanych źródeł infekcji w pobliżu badanych roślin	

**UWAGA:** W przypadku pobierania prób w mateczniku podkładek rozmnażanych przez odkłady, identyfikacja pojedynczej rośliny może być bardzo trudna lub praktycznie

niemożliwa. W takim przypadku należy trwale oznakować 1 metr bieżący, z którego należy pobrać do testów po jednym liściu z ośmiu pędów (jako jedną próbę). W przypadku stwierdzenia wirusa usunąć rośliny z badanego metra i po jednym metrze z każdej strony (łącznie 3 metry bieżące rzędu).

#### Metoda laboratoryjna weryfikacji obecności ApMV

Do wykrywania ApMV należy stosować test ELISA.

#### Objaśnienia skrótów użytych w tekście:

ELISA = Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay = test immunoenzymatyczny

---

Opracowanie: dr hab. Mirosława Cieślińska, prof. IO; e-mail: [mirosława.cieslinska@inhort.pl](mailto:mirosława.cieslinska@inhort.pl)