

**Metodyka pobierania prób materiału szkółkarskiego
do oceny laboratoryjnej na obecność wirusa
pierścieniowej plamistości pomidora Tomato ringspot
nepovirus (ToRSV)**

Rośliny testowane:

**Malina – *Rubus idaeus* L., Jeżyna – *Rubus fruticosus* i inne gatunki
Rubus ssp.**

Wirus pierścieniowej plamistości pomidora – Tomato ring spot virus (Nepovirus lycopersici, ToRSV) jest polifagiem o szerokim zakresie roślin gospodarzy występującym na wszystkich kontynentach. Największe straty powoduje w Ameryce Północnej, gdzie rozpowszechnione są nicienie należące do rodzaju *Xiphinema americanum sensu lato* (sztylak amerykański) będące wektorami ToRSV.

Po zakażeniu maliny i jeżyny ToRSV, wiosną, na liściach jednorocznych pędów niektórych odmian mogą występować żółte pierścienie, wzory liniowe lub chloroza nerwów na liściach. Objawy te zwykle zanikają w czasie gorącej pogody. Rośliny chronicznie zakażone karłowacieją, ich liście rozwijają się później niż u roślin zdrowych, a przyrosty pierwszoroczne mają wyraźnie ciemniejszy, brązowy odcień. Objawy różniły się w zależności od odmiany i długości trwania infekcji. Plon owoców i ich wielkość są znacznie obniżone.

Patogen jest przenoszony przez nicienie z rodzaju *Xiphinema* spp. ToRSV może być również przenoszony przez nasiona i z pyłkiem porażonych roślin.

Termin pobierania prób

Materiał roślinny powinien być uznany za wolny od wirusa na podstawie wyników oceny wizualnej. Pobieranie prób i ocenę laboratoryjną przeprowadza się na obecność wirusa dla materiału kategorii elitarny w stopniu przedbazowy, a dla pozostałych kategorii i stopni jeżeli objawy wirusa nie są jednoznaczne na podstawie

oceny polowej. Próby do testów na obecność ToRSV należy pobierać wiosną (maj-czerwiec) przed nastaniem długotrwałych wysokich temperatur powietrza.

Wybór tkanki/części rośliny do testowania

Do testów na obecność ToRSV w roślinach gatunków *Rubus* spp. 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 próba powinna pochodzić z jednej rośliny, oznakowanej w sposób umożliwiający jej identyfikację (*w dalszej części omówiono odstępstwa od tej reguły*).
2. Wskazane jest oznaczenie (zaetykietowanie) roślin, z których pobrano próby, 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 zacienianie. 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). Próby 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, próba 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 próba pobierana jest z czterech różnych pędów (z czterech stron krzewu), po dwa do czterech liści z pominięciem liści najstarszych i najmłodszych.
5. Jeżeli na liściach występują chlorotyczne plamy, należy w pierwszym rzędzie pobrać próbki liści wykazujących objawy chorobowe.

6. Pobrane próby należy przekazać do badań laboratoryjnych załączając zlecenie na wykonanie badań laboratoryjnych (formularz można pobrać ze strony internetowej Państwowej Inspekcji Ochrony Roślin i Nasiennictwa, www.gov.pl/piorin). Dodatkowo należy sporządzić i przechowywać przez 3 lata kopię "Zlecenia" oraz pisemną informację zawierającą dodatkowe dane, o ile nie zostały podane w "Zleceniu":

Data pobrania próby (dd mm rrrr)	
Dane producenta: • imię i nazwisko • adres kontaktowy • telefon • e-mail	
Adres plantacji	
Rodzaj uprawy (gatunek, odmiana, ew. typ, wiek roślin)	
Rodzaj pobranego materiału (na przykład: liście)	
Plan (szkic) lub opis umożliwiający jednoznaczne odnalezienie roślin w terenie, z których pobierano próby	
Dodatkowe informacje dotyczące m.in. występowania chorób, szkodników, izolacji od źródeł infekcji	

UWAGA: Przy pobieraniu prób w mateczniku sadzonek, identyfikacja pojedynczej rośliny może być utrudniona. W takim przypadku należy trwale oznakować 1 metr bieżący, z którego jako jedną próbę należy z każdej rośliny pobrać do testów po dwa w pełni wykształcone liście z pominięciem liści najstarszych i najmłodszych. W przypadku stwierdzenia wirusa należy usunąć rośliny z badanego metra i po jednym metrze z każdej strony (łącznie 3 metry bieżące rzędu).

Metoda laboratoryjna weryfikacji obecności wirusów

Do wykrywania ToRSV w roślinach maliny, jeżyny i innych gatunkach z rodzaju *Rubus* należy stosować test ELISA.

Literatura

Coneva, E., Murphy, J. F., Boozer, R., Velasquez, N. (2010). Incidence and distribution of viruses in blackberry (*Rubus* sp.) in Alabama. International Journal of Fruit Science, 10 (1): 87-95.

- EPPO (2005). PM7/49 Tomato ringspot virus. Diagnostics. EPPO Bulletin, 35: 313-318
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2005.00831.x>.
- EPPO (2009). PM 4/10 Certification scheme for *Rubus*. EPPO Bulletin, 39: 271-277.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2009.02308.x>.
- EPPO (2024). Nepovirus lycopersici. EPPO datasheets on pests recommended for regulation. <https://gd.eppo.int>.
- González Silva, G. R., Concha Espinoza, C. M., Valenzuela Bustamante, M. A., Cordero Alday, L. C., Pico Mendoza, J. N., Cáceres Ruz, P. A., García González, R. (2017). Distribution and frequency of tomato ringspot virus (ToRSV) in different varieties of *Rubus idaeus* in the Maule Region, Chile. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo, 49(1): 143-156.
- Martin, R. R., MacFarlane, S., Sabanadzovic, S., Quito, D., Poudel, B., Tzanetakis, I. E. (2013). Viruses and virus diseases of Rubus. Plant Disease, 97 (2): 168-182.
- Tuffen, M. (2018). Rapid Pest Risk Analysis (PRA) for: Tomato ringspot virus (ToRSV) <https://planthealthportal.defra.gov.uk/pests-and-diseases/uk-plant-health-risk-register/viewPestRisks.cfm?csref=732>.

Objaśnienia skrótów użytych w tekście:

ELISA = Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay = test immunoenzymatyczny

Opracowanie: prof. dr hab. Mirosława Cieślińska, e-mail: mirosława.cieslinska@inhort.pl