

MARCIN PRZYBYŚ**URSZULA SKOMRA****GRAŻYNA KORBECKA-GLINKA**

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa — Państwowy Instytut Badawczy, Puławy

Kierownik Tematu: dr Marcin Przybyś Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa — Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, tel. 81 4786 934,

e-mail: mprzybys@iung.pulawy.pl

Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi nr HOR.hn.802.11.2018, Zadanie 107.

Występowanie dotychczas niemonitorowanych wirusów (HpLV, ArMV) i wiroidów (HpSVd, AFCVd, CBCVd) na plantacjach produkcyjnych chmielu w Polsce

The occurrence of previously unmonitored viruses (HpLV, ArMV) and viroids (HpSVd, AFCVd, CBCVd) in hop gardens in Poland

Słowa kluczowe: AFCVd, ArMV, CBCVd, chmiel, HpLV, HpSVd, wirusy

W roku 2018 podjęto badania dotyczące występowania dotychczas niemonitorowanych wirusów i wiroidów na plantacjach produkcyjnych chmielu w Polsce. Celem badań było gromadzenie próbek chmielu z różnych rejonów uprawy chmielu, opracowanie metody molekularnej opartej o reakcję amplifikacji DNA do niezależnego wykrywania badanych patogenów oraz ocena występowania na plantacjach produkcyjnych chmielu w Polsce: wirusa utajonego chmielu (HpLV), wirusa mozaiki gęsiówki (ArMV) wiroida karłowatości chmielu (HpSVd), wiroida wyboistości jabłek (AFCVd) oraz wiroida pęknięcia kory cytrusowych (CBCVd). W pierwszej kolejności opracowano molekularne metody detekcji poszczególnych patogenów. Oparte były one o reakcję odwrotnej transkrypcji i amplifikację DNA (RT-PCR). W celu detekcji HpLV amplifikowano 5'-koniec genomu wirusa i gen kodujący metylotransferazę, który jest silnie konserwowany ewolucyjnie (Schuman, 2002). W celu wykrycia ArMV amplifikowano wysoce konserwatywny region kodujący białko płaszcz (CP), a w przypadku

detekcji wiroidów amplifikowano pełne genomy patogenów. Kolejnym etapem badań było gromadzenie próbek chmielu z plantacji produkcyjnych zlokalizowanych we wszystkich rejonach uprawy chmielu w Polsce: lubelskim, wielkopolskim, dolnośląskim. Próbkę pobierano zarówno z odmian typu goryczkowego, jak i aromatycznego. Dodatkowo gromadzono próbki z kolekcji odmian chmielu utrzymywanej w IUNG — PIB w Puławach. Próbkę gromadzono 3-krotnie w trakcie sezonu wegetacyjnego, co wynikało z faktu, iż niektóre patogeny są możliwe do wykrycia tylko w określonych stadiach rozwojowych rośliny (Tsai i in., 2012; Wetzel i in., 2002; Ziegler i in., 2014). Pierwszy termin obejmował okres naprowadzania roślin chmielu na przewodniki, kolejny obejmował fazę kwitnienia, a ostatni fazę dojrzałości. Ogółem w roku 2018 zgromadzono 905 próbek chmielu pochodzących z 32 plantacji produkcyjnych i kolekcji odmian IUNG — PIB. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono występowanie na terenie Polski przypadków porażenia roślin chmielu przez utajony wirus chmielu (Hop latent virus, HpLV) oraz wiroid karłowatości chmielu (Hop stunt viroid, HpSVd). Występowanie wirusa HpLV stwierdzono we wszystkich rejonach uprawy chmielu w Polsce (tab. 1).

Tabela 1

Występowanie wirusów i wiroidów w chmielu w Polsce						
Rejon uprawy	Patogen					
	HpLV			HSVd		
	Odmiana	WNP*	l. próbek	Odmiana	WNP*	l. próbek
Lubelski	Marynka	1	2		0	0
Wielkopolski	Marynka	1	2	Magnum	1	2
Dolnośląski	Hallertau Tradition	1	1		0	0
	Magnum	1	1			
Kol. IUNG — PIB		0	0		0	0
	Razem	4	6		1	2

* WNP — liczba plantacji na jakiej stwierdzono występowania patogena

Na terenie lubelskiego i wielkopolskiego rejonu uprawy chmielu występowanie HpLV stwierdzono na odmianach Marynka, a w rejonie dolnośląskim na odmianach Hallertau Tradition i Magnum. HpLV wykryto w próbkach gromadzonych w drugim i trzecim terminie. Hop latent virus (HpLV) należy do rodzaju Carlavirus. Wirus ten pierwszy raz w historii został opisany już w latach sześćdziesiątych XX wieku (Schmidt, 1966). Obecnie znane są przypadki jego występowania we Francji (Eppler, 1989), Nowej Zelandii (Hay i in., 1992), Australii (Pethybridge, 2000), Chinach (Yu i Liu, 1987), Południowej Afryce (Von Weschmar i in., 1989) i Japonii (Kanno i in., 1993). Zakażenie chmielu tym wirusem jest niebezpieczne ponieważ nie wywołuje żadnych widocznych objawów przez co może rozprzestrzeniać się na plantacji w sposób niekontrolowany. (Ziegler, i in., 2014). Wirus przenoszony jest przez mszyce w sposób nietrwały. Głównym wektorem jest mszyca śliwowo-chmielowa (*Phorodon humuli*) (Adams i Barbara, 1982). Inne wektory, to mszyca brzoskwiniowo-ziemniaczana (*Myzus persicae*) i mszyca ziemniaczana (*Macrosiphum euphorbiae*) (Crowle i in., 2006). HpLV nie ma innych poza chmielem naturalnych gospodarzy. Na podstawie badań przepro-

wadzonych w 2018 r. występowanie HpSVd stwierdzono, tylko w wielkopolskim rejonie uprawy chmielu, na jednej plantacji produkcyjnej na odmianie Magnum. Podobnie jak w przypadku HpLV, HpSVd wykryto w próbkach gromadzonych w drugim i trzecim terminie. *Hop stunt viroid* (HpSVd) należy do rodzaju *Hostuviroid*. HpSVd po raz pierwszy został odkryty w Japonii już w latach siedemdziesiątych XX wieku, kolejne doniesienia mówiły o jego występowaniu w Korei Południowej i USA (Yamamoto i in., 1973; Sano, 1989; Lee i in., 1990; Pethybridge, 2008). W roku 2012 po raz pierwszy stwierdzono jego występowanie w Europie (Radisek i in., 2012). HSVd powoduje zahamowanie wzrostu porażonych roślin, co w efekcie prowadzi do spadku plonów i obniżenia zawartości alfa-kwasów (Sano, 2003). Typowym objawem zakażenia jest zwijanie i żółknięcie liści oraz wytwarzanie małych szyszek. Zahamowanie wzrostu roślin obserwuje się po 3–5 lat od zakażenia (Eastwell i Nelson, 2007). Podobnie jak inne wiroidy przenoszony jest w sposób mechaniczny. Posiada wielu gospodarzy: śliwy, brzoskwinie, cytrusy i winorośl (Sano i in., 1989, Diener i in., 1988, Matoušek i in., 2003), które mogą być rezerwuarem patogena. Ogółem w 2018 r., HpLV wykryto w 6 próbkach pochodzących z 4 plantacji produkcyjnych, natomiast HpSVd w 2 próbkach pochodzących z jednej plantacji produkcyjnej. W żadnej z badanych próbek nie stwierdzono obecności wirusa mozaiki gęsiówki (*Arabid mosaic virus*, ArMV), wiroida wyboistości jabłek (*Apple fruit crinkle viroid*, AFCVd) oraz wiroida pęknięcia kory cytrusowych (*Citrus bark cracking viroid*, CBCVd). Monitoring występowania chorób wirusowych u roślin jest bardzo istotnym działaniem mającym wspierać wczesne wykrywanie zagrożeń i zapobieganie późniejszemu rozprzestrzenianiu się chorób. Należy podkreślić, że uzyskane wyniki wskazują, że największym zagrożeniem upraw chmielu w Polsce są HpLV i HpSVd. Pomimo niestwierdzenia obecności CBCVd, AFCVd i ArMV nie można wykluczyć, że ten problem nie istnieje szczególnie, że zakażenia tymi patogenami są znane w Europie (Pethybridge, 2008, Radisek, 2012). Ponieważ nieznanne są genetyczne źródła odporności na HpLV i HpSVd, dlatego tak ważne jest utrzymywanie wysokiej zdrowotności plantacji poprzez stosowanie wysokiej jakości materiału sadzonkowego i przestrzeganie zaleceń fitosanitarnych, co będzie zabezpieczało plantacje przed zakażeniem, a potem rozprzestrzenianiem się infekcji.

WNIOSKI

1. Opracowane protokoły wykrywania poszczególnych wirusów i wiroidów umożliwiają detekcję wszystkich badanych patogenów.
2. Na plantacjach chmielu w Polsce w roku 2018 nie stwierdzono występowania ArMV, AFCVd i CBCVd.
3. Występowanie HpLV na plantacjach produkcyjnych stwierdzono we wszystkich rejonach uprawy chmielu w Polsce.
4. HpSVd wykryto na jednej plantacji produkcyjnej w rejonie wielkopolskim.

LITERATURA

- Adams A. N., Barbara D. J. 1982. Host range, purification and some properties of two Carla viruses from hop (*Humulus lupulus*): hop latent and American hop latent. *Ann. Appl. Biol.* 101 (3): 483 — 494.
- Crowle D. R., Pethybridge S. J., Wilson C. R. 2006. Transmission of hop latent and hop mosaic carlaviruses by *Macrosiphum euphorbiae* and *Myzus persicae*. *J. Phytopathol.* 154: 745 — 747.
- Diener T. O., Smith D. R., Hammond R. H., Albanese G., Larosa R., Davino M. 1988. Citrus-B viroid identified as a strain of hop stunt viroid. *Plant Dis.* 72: 691 — 693.
- Eastwell K. C., Nelson, M. E. 2007. Occurrence of viroids in commercial hop (*Humulus lupulus* L.) production areas of Washington State. Online. *Plant Health Progress*, DOI: 10.109/PHP2007-1127-01-RS.
- Eppler A. 1989. Presence of viruses in the hop growing region of Alsace (France). Page 209 in: *Proc. Int. Workshop Hop Virus Dis.* Giessen.
- Hay F. S., Close R. C., Fletcher J. D., Ashby J. W. 1992. Incidence and spread of viruses in hop (*Humulus lupulus* L.) in New Zealand. *N.Z. J. Crop Hortic. Sci.* 20:319 — 327.
- Kanno Y., Yoshikawa N., Takahashi T. 1993. Some properties of hop latent and apple mosaic viruses isolated from hop plants and their distributions in Japan. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 59: 651 — 658.
- Lee J. Y., Lee S. H., Sanger H. L. 1990. Viroid diseases occurring on Korean hop plants. *Korean J Plant Pathol.* 6: 256 — 260.
- Matoušek J., Orctova L., Patzak J., Svoboda P., Ludvikova I. 2003. Molecular sampling of hop stunt viroid (HSVd) from grapevines in hop production areas in the Czech Republic and hop protection. *Plant, Soil Environ.* 49 (4): 168 — 175.
- Pethybridge S. J., Hay F. S., Barbara D. J., Eastwell K. C., Wilson C. R. 2008. Viruses and Viroids Infecting Hop: Significance, Epidemiology, and Management, *Plant Dis.* 92 (3): 324 — 338.
- Pethybridge S. J., Wilson C. R., Sherriff L. J., Leggett G. W., Munro D. 2000. Virus incidence in Australian hop (*Humulus lupulus* L.) gardens and cultivar differences in susceptibility to infection. *Aust. J. Agric. Res.* 51: 685 — 689.
- Radisek S., Majer A., Jakse J., Javornik B., Matoušek J. 2012. First Report of Hop stunt viroid Infecting Hop in Slovenia, *Dis. Notes* 96 (4): 592.
- Sano T. 2003. Hop stunt viroid. In: Hadidi A, Flores R., Randles J. W., Semancik J. S. (eds.): *Viroids*. Collingwood, Australia, CSIRO Press: 207 — 212.
- Sano T., Hataya T., Terai Y., Shikata E. 1989. Hop stunt viroid strains from dapple fruit disease of plum and peach in Japan. *J. Gen. Virol.*, 70: 1311 — 1319.
- Schmidt H. E. 1966. Mechanical transmission of a rod-shaped Hop virus to herbaceous test plants. *Zentralbl. Bakteriol. B* 120: 461 — 466.
- Shuman S. 2002. What messenger RNA capping tells us about eukaryotic evolution. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 3: 619 — 625.
- Tsai C. W., Daugherty M. P., Almeida R .P. P. 2012. Seasonal dynamics and virus translocation of grapevine leafroll-associated virus 3 in grapevine cultivars. *Plant Pathol.* 61: 977 — 985.
- Von Weschmar W. B., Brits G., Coleman T. 1989. Viruses in hops and aspects of virus epidemiology and hop production in South Africa at 34° southern latitude. *Proc. Int. Workshop Hop Virus Dis.* Giessen: 33 — 42.
- Wetzel T., Jardak R., Meuniera L., Ghorbel A., Reustle G. M., Krczal G. 2002. Simultaneous RT/PCR detection and differentiation of arabis mosaic and grapevine fanleaf nepoviruses in grapevines with a single pair of primers. *J. Virol. Methods* 101 (1–2): 63 — 69.
- Yamamoto H., Kagami Y., Kurokawa M., Nishimura S., Ukawa S., Kubo S. 1973. Studies on hop stunt disease in Japan. *Rep. Res. Lab. Kirin Brewery Co., Ltd.* 16: 49 — 62.
- Yu J., Liu Y. 1987. The occurrence of three viruses in hop (*Humulus lupulus* L.) in China. *Plant Pathol.* 36: 38 — 44.
- Ziegler A., Kawka M., Przybys M., Doroszewska T., Skomra U., Kastirr U., Matoušek J., Schubert J. 2014. Detection and molecular analysis of Hop latent virus and Hop latent viroid in hop samples from Poland. *Journal fur Kultur Pflanzen* 66 (7): 248 — 254.