

PREPREČEVANJE VIRUSNIH OBOLENJ HMELJA ZGODOVINSKI PREGLED, TRENUTNO STANJE IN USMERITVE ZA PRIHODNOST

dr. Sebastjan Radišek
Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije

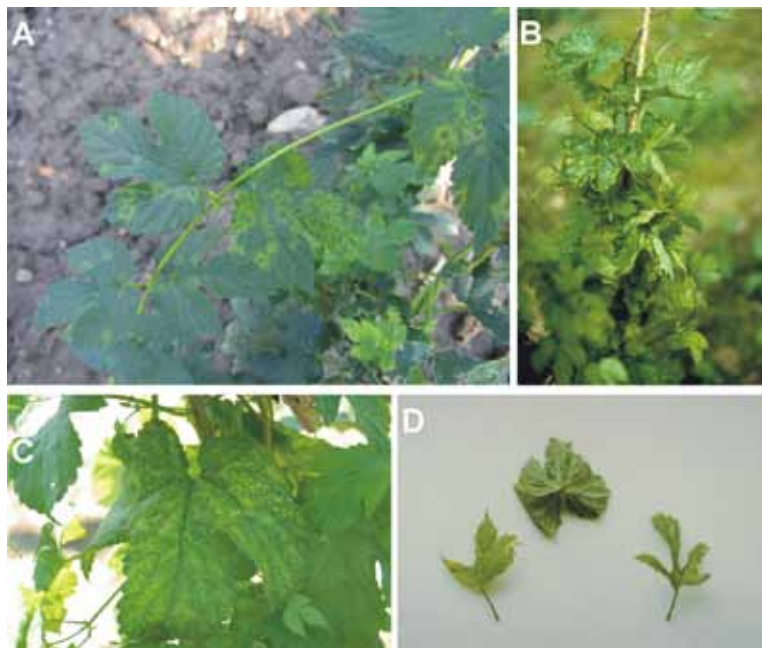
Gospodarski pomen virusov

Virusi se lahko na hmelju pojavljajo v latentni obliki, pri kateri ne opazimo očitnih bolezenskih znamenj, vendar kljub temu znižujejo pridelek in kakovost hmelja. Poznamo pa tudi virusna obolenja, pri katerih prihaja do izrazitih motenj razvoja in odmiranja rastlin. Ker se je določanje in odkrivanje virusov pričelo razvijati šele v šestdesetih letih prejšnjega stoletja, so tako prvi opisi virusnih bolezni povezani z vidnimi znamenji na rastlinah. Bolezen, imenovano »koprivja glava«, ki povzroča zaostajanje hmeljnih rastlin in kodravost listja, so v Angliji poznali že v 16. stoletju. Prve podrobne opise obolenj, kot so »raztrganost listja«, »ogolelost trt«, »hmeljeva kloroza« in »koprivja glava«, so angleški raziskovalci objavili v začetku 20. stoletja, saj so v tem obdobju pa vse do leta 1950 povzročala velike izgube pridelka na območju Anglije. Šele leta 1966 je Bock odkril, da je skupni povzročitelj vseh omenjenih obolenj virus repnjakovega mozaika (ArMV). V obdobju 1950–1970 so poleg angleških raziskovalcev o problematiki virusnih obolenj hmelja, izbruhih in škodah poročali tudi s Češke, iz Nemčije, Francije, ZDA, s Poljske, iz Ukrajine, z Madžarske, iz Vojvodine ter Slovenije. Pri tem večina virov iz tega obdobja navaja opise degenerativnih in mozaičnih bolezenskih znamenj in njihov vpliv na pridelek ter načine preprečevanja, medtem ko posameznih virusov takrat še niso identificirali. V obdobju, ki je sledilo, pa vse do danes so z razvojem ELISA in molekularnih identifikacijskih metod na hmelju uspeli določiti 17 različnih virusov, med katerimi je 5 takšnih, ki lahko povzročajo gospodarsko škodo. To so ILAR virus, Apple mosaic virus (ApMV), trije CARLA virusi – *Hop mosaic virus* (HpMV), *Hop latent virus* (HpLV) in *American hop latent virus* (AHLV), ter že omenjeni NEPO virus (ArMV) (Pethybridge s sod., 2008). Problematika virusov in viroidov pri hmelju je v primerjavi z ostalimi rastlinami, ki se vegetativno razmnožujejo in so zaradi tega idealne za kopičenje in širjenje teh organizmov, podobna, vendar pa se razlikuje v stopnji širjenja, ki je pri hmelju pogosto mnogo hitrejša. Dejanski razlogi za to še niso popolnoma pojasnjeni, vendar se povezujejo s hitro in z obsežno rastjo, medsebojno prepletenostjo rastlin v nasadu, s sajenjem na iste površine ter hmelju specifično agrotehniko, ki preko vegetacije povzroča pogoste mehanske poškodbe na rastlinah.

V Sloveniji najdemo podrobnejše opise in poročila o virusnih obolenjih hmelja po letu 1945, ki navajajo prisotnost »hmeljevega mozaika« in »koprivje glave« predvsem v starejših nasadih, s povečano intenzivnostjo v hladnih in mokrih letih (Kač, 1967). Z vpeljavo ELISA določanja virusov na IHPS je bilo v obdobju 1983–1990 izvedenih več sistematičnih raziskav, v okviru katerih se je v slovenskih hmeljiščih potrdila prisotnost in razširjenost virusov ApMV, HpMV, HpLV in ArMV. Prevladujoči virus ApMV je bil v tistem obdobju 100% prisoten pri sorti Savinjski golding in v povprečju 50% pri sorti Aurora, ki sta skupaj pokrivali 90 % vseh nasadov. Okužba z virusoma HpMV in HpLV, ki ju prenaša hmeljeva listna uš (*Phorodon humuli*), je bila prav tako prisotna v vseh nasadih v obsegu 15–75 %, medtem ko je bil ArMV ugotovljen v nizkem 2% obsegu le na sorti Savinjski golding. Leta 1990 je bil v kolekcijskem nasadu sort na IHPS na ameriških sortah potrjen tudi AHLV, ki pa se ni razširil na slovenske sorte in je bil v tistem času popolnoma iztrebljen (Dolinar, 1990).

V svetu se je z vpeljavo ELISA določanja virusov razvila tudi metodologija očiščenja virusov iz rastlin preko meristemskih kultur. Prve brezvirusne rastline hmelja so tako vzgojili leta 1969 v Angliji in leta 1973 še v Nemčiji. V Sloveniji se je proizvodnja brezvirusnih rastlin razvila leta 1985 in, tako kot v ostalih večjih pridelovalkah hmelja, poteka še danes. Sajenje brezvirusnih nasadov je omogočilo nadzorovano spremljanje vpliva posameznih virusov na pridelek in razvoj rastlin. Tako je bilo za ILAR virus ApMV v Angliji ugotovljeno, da znižuje pridelek na različnih sortah za 3–21 % in vsebnost alfa-kislin za 4–16 %. V Nemčiji so v okviru večletnih raziskav z ApMV okuženih rastlinah ugotovili znižanje alfa-kislin za 18–26 %. V Sloveniji je sistematična raziskava določanja vpliva ApMV na pridelek potekala v letih 1988–1992 na sorti Savinjski golding v okviru katere je bilo ugotovljeno pri brezvirusnih rastlinah v povprečju do 30% višji pridelek in 17% povečanje alfa kislin. Pomembno odkritje večletnih raziskav mag. Dolinarjeve predstavlja tudi ugotovitev visoke odpornosti pri sorti Atlas, kar bi se lahko v prihodnosti izkoriščalo pri zlahtnjenju novih hmeljnih sort (Dolinar, 1993). Proučevanja fiziologije brezvirusnih rastlin sorte Savinjski golding v letih 1993–1994 so pokazala, da pričneta v zaključku dozorevanja hmelja pri brezvirusnih rastlinah naraščati teža storžkov in vsebnost

alfa-kislin, medtem ko pri okuženih rastlinah narašča samo teža storžkov (Zmrzlak, 1995). Vpliv CARLA virusov na pridelek v Sloveniji še ni bil proučevan, raziskave iz Anglije, Avstralije in Severne Amerike pa so pokazale visoko občutljivost nekaterih sort iz skupine Golding, ki ob okužbah na listih razvijejo mozaične kloroze, in manjši pridelek tudi do 50 %.



Bolezenska znamenja virusov na hmelju – A: jablanov mozaik na listju (ApMV), B: koprivja glava (ArMV) – zakrnela rastlina, C: hmeljev mozaik (HpMV), D: koprivja glava (ArMV) – prizadeto listje.

(Radišek S., IHPS, foto A in C; Eppler A., IPAZ, Nemčija, foto B in D)

Načini preprečevanja virusov

Okužbe z virusi niso ozdravljive, zato se proti njim lahko borimo le s preventivnimi ukrepi in z vzgojo brezvirusnih rastlin. Te lahko pridobimo s postopki meristemskih kultur, s katerimi iz okuženih rastlin izoliramo zdravo tkivo in na ta način vzgojimo brezvirusne matične rastline. Sodobno preprečevanje virusov v praksi tako temelji na certificirani vzgoji brezvirusnega sadilnega materiala in preprečevanju nastajanja ponovnih okužb. Ker lahko virusi preživijo le v živem tkivu, je ključnega pomena, da sadimo hmeljišča na površine, ki so dobro očiščene ostankov starega hmelja ali hmeljnih rastlin, ki so ponovno odgnale po krčenju nasadov. V praksi se to najlažje doseže z dvoletno premeno, v okviru katere se lahko tla dobro očistijo vseh ostankov hmeljnih rastlin ter tudi primerno »spočijejo« in hranilno pripravijo na rast novih rastlin. Poleg priprave zemljišča je pomembno, da pridelovalci v primeru slabega vznika ali propadanja brezvirusnih rastlin ob sajenju ponovno dosajate hmeljišče z brezvirusnimi sadikami in ne s sadikami iz

proizvodnih nasadov, saj se na ta način v brezvirusni nasad vnese vir okužbe (Dolinar, 1997). Ključni ukrep preprečevanja mehanskega prenosa ApMV v nasade temelji na razkuževanju rezalnikov in ostalih orodij, ki povzročajo rane. Pri tem se nasadi obravnavajo ločeno, in sicer se najprej obdelajo brezvirusni nasadi, nazadnje pa hmeljišča, kjer je okužba z virusi že prisotna. Tako lahko dosežemo, da imamo ob upoštevanju vseh ukrepov stopnjo okužbe z ApMV pod 1 % tudi v 10 ali več let starih matičnih nasadih (Dolinar, 1997). Pomemben ukrep obvladovanja virusov predstavlja tudi povečevanje deleža obnavljanja proizvodnih hmeljišč s sadilnim materialom, pridobljenim v brezvirusnih matičnih nasadih, saj se na ta način stalno zmanjšuje infekcijski potencial virusov v hmeljiščih.

Razvoj uradnega potrjevanja sadilnega materiala hmelja v svetu

Zavedanje o pomembnosti zdravega sadilnega materiala v hmeljarstvu sega v sam začetek pridelave hmelja, saj v starejši literaturi najdemo precej nasvetov o pravilni izbiri hmeljišč za nabiranje sadik (Sadar, 1928). Prvo pravo uradno potrjevanje sadik hmelja se je pričelo v Angliji, kjer so leta 1943 uvedli program zdravstvenih pregledov hmeljišč in certificiranja sadilnega materiala, s katerim so želeli preprečiti širjenje verticilijske uvelosti hmelja in virusa ArMV. Omenjen virus, ki močno prizadene razvoj rastlin, je bil v Angliji v tistem obdobju tako razširjen, da so se s težavo vzpostavili neokužene matične nasade. Pomemben mejnik predstavlja leto 1949, ko so v certificiranje prvič vpeljali dve različni stopnji vzgoje in potrjevanja sadik, imenovani certifikat A in B. Oba certifikata sta potrjevala izvor sadik iz hmeljišč, kjer se ne pojavlja verticilijska uvelost, v primeru certifikata A pa sta se temeljiteje nadzorovala še virus ArMV in hmeljev mozaik (HMV). Leta 1955 so program certifikata A spremenili v sistem razmnoževanja hmelja izključno iz matičnih rastlin, ki se nahajajo v rastlinjakih v nadzorovanih pogojih z zagotovljeno sledljivostjo ter rednim preverjanjem zdravstvenega stanja. Z razvojem ELISA tehnike določanja virusov, odkritjem še ostalih virusov ter razvojem tehnike eliminacije virusov iz obolelih rastlin so leta 1973 pričeli s proizvodnjo brezvirusnega sadilnega materiala, ki poteka še danes (Pethybridge s sod., 2008). Osnova opisanega uradnega potrjevanja iz Anglije je bila kasneje vpeljana tudi v Evropski EPP standard certifikacijske sheme za hmelj – PM 4/16(2), ki se sedaj uporablja v večini evropskih dežel pridelave hmelja. Izmed pionirjev vpeljave certificiranja sadilnega materiala hmelja je potrebno omeniti tudi

Japonsko, kjer so v petdesetih letih prejšnjega stoletja na podoben način kot v Angliji postavili certifikacijski sistem z namenom preprečevanja širjenja hop stunt viroida (HSVd).

Uradno potrjevanje sadilnega materiala hmelja v Sloveniji

V Sloveniji se je organiziran nadzor nad sadilnim materialom hmelja pričel po letu 1950, predvsem z izvajanjem masovne selekcije v hmeljiščih in s potrjevanjem matičnih nasadov takrat edine sorte Savinjski golding. Leta 1975 je takratna pospeševalna služba na Inštitutu za hmeljarstvo Žalec uvedla matične knjige, register matičnih hmeljišč in registracijo pridelovalcev sadilnega materiala (IHPS, 1976). Povečan nadzor nad zdravstvenim stanjem matičnih nasadov se je pričel izvajati po odkritju blage oblike verticiljske uvelosti hmelja leta 1974 (Dolinar, 1975). Tako so npr. v letu 1980 zaradi prisotnosti te bolezni izločili iz uradnega potrjevanja več kot 20 ha matičnih hmeljišč od skupno prijavljenih 170 ha (IHPS, 1981). Poleg potrjevanja brezvirusnih sadik je bilo od leta 1986 uradno potrjevanje sadik hmelja urejeno tudi s Pravilnikom o obveznem zdravstvenem pregledu posevkov in objektov, semena in sadilnega materiala kmetijskih in gozdnih rastlin (Uradni list SFRJ, št. 52/86), ki pa je prenehal veljati leta 2004. V tem letu je bil izdan Pravilnik o trženju razmnoževalnega materiala in sadik hmelja, ki predstavlja prvi pravni akt, ki je celovito zajel in uredil uradno potrjevanje sadilnega materiala hmelja z upoštevanem EPPO standardov. Omenjeni pravilnik je bil večkrat dopolnjen (Uradni list RS, št. 21/07, 19/08 in 12/10), nazadnje v letu 2013.

V Sloveniji vzgajamo in žlahtnimo domače sorte hmelja, ki so prilagojene na naše rastne pogoje, zato pridelujemo in vzdržujemo vse kategorije razmnoževalnega materiala in sadik hmelja. Prvo stopnjo predstavlja odbira rastlin kandidatke za izvirne matične rastline (IMR). Odrbane kandidatke morajo biti sortno pristne, vitalne in izvirati iz hmeljišč, kjer ni prisotnih karantenskih organizmov. Odrbane rastline se posamično testira na 7 virusov in 3 viroide. Rastline, ki so zdrave in ne vsebujejo prisotnosti škodljivih organizmov, se lahko potrdijo kot izvirne matične rastline. Te se vzdržujejo v rastlinjaku ali drugem zaprtem prostoru v razmerah, ki preprečujejo nastajanje ponovnih okužb z zračnimi ali s talnimi vektorji. Izvirne matične rastline so ločene od ostalih kategorij razmnoževalnega materiala, za zagotavljanje sledljivosti pa so primerno označene. Preverjanje zdravstvenega stanja s testiranjem poteka najmanj na vsaki 2 leti.

Namen izvornih matičnih rastlin je vzdrževanje osnovnega genetskega materiala sort hmelja, iz njih pa se vzgojijo tudi osnovne matične rastline (OMR), ki so namenjene za

razmnoževanje in proizvodnjo certificiranih sadik A (CS_A). Vsako leto pred razmnoževanjem se osnovne matične rastline testirajo na prisotnost dveh najpomembnejših virusov ApMV in HMV ter na prisotnost viroidne zakrnelosti hmelja. Zdrave OMR se uradno potrdijo, iz njih pa se vegetativno s potaknjenci razmnožujejo certificirane sadike A. Te se v prvi fazi na oroševalnih napravah v rastlinjakih ukoreninijo, nato pa presadijo v lončke in do nastopa dormance utrdijo na prostem v senčnici. V tem času se 1 % rastlin postkontrolno testira na virusa ApMV in HMV.

Certificirane sadike A predstavljajo osnovo za vzpostavitev certificiranih matičnih hmeljišč (CMH), ki morajo biti posajeni na primerne lokacije glede prisotnosti karantenskih organizmov (ogorčice, verticiljska uvelost, viroidna zakrnelost hmelja). Hmeljar do 1. aprila tekočega leta prijavi CMH certifikacijskemu organu na IHPS, ki nato v času vegetacije opravi pregled sortne čistosti, zdravstveni pregled ter vzorčenje in testiranje 5 % rastlin na virus ApMV. V primeru, da je v nasadu okužba z ApMV pod 1 % in da je nasad zdrav in sortno čist, se potrdi in postane primeren za nabiranje brezvirusnih certificiranih sadik B (CS_B), ki so namenjene obnovi proizvodnih hmeljišč. V primeru presežene 1-% tolerance prisotnosti virusa ApMV certificirano matično hmeljišče ni več primerno za pridelavo brezvirusnega materiala, vendar pa se lahko potrdi kot standardno matično hmeljišče (SMH), v katerem poteka enak nadzor kot v CMH, razen testiranja na viruse. Certificirane sadike A in B ter standardne sadike so priznane kot tržno blago.

Poleg omenjenih kategorij razmnoževalnega in sadilnega materiala v Sloveniji poznamo tudi sistem nabiranja sadik v proizvodnih hmeljiščih (PH), kar predstavlja minimum kakovosti sadilnega materiala in je namenjen kot varovalka ob morebitnem pomanjkanju sadik določenih sort. Pogoji za nabiranje sadik v PH so, da je bil nasad posajen s certificiranimi sadikami A ali B, da leži na ustrezni lokaciji glede karantenskih organizmov ter da je bil opravljen zdravstveni pregled v vegetaciji pred nabiranjem sadik. Sadike, nabrane v PH nasadih, niso tržne in jih hmeljarji uporabljajo le za obnovo lastnih površin. IHPS kot certifikacijski organ ob koncu leta izda seznam vseh potrjenih certificiranih in standardnih matičnih hmeljišč, iz katerih lahko hmeljarji nabirajo in tržijo sadilni material že jeseni istega leta ali naslednje leto pred nastopom vegetacije. Seznam matičnih hmeljišč je za tekoče leto javno dostopen na spletni strani IHPS (<http://www.ihps.si/>).

Z vizualnimi pregledi in s testiranjem rastlin na viruse v času vegetacije lahko ugotovimo prisotnost večine škodljivih organizmov in na ta način potrdimo matično

hmeljščice kot primerno za nabiranje sadik. Vendar pa sadike, pridobljene v matičnih hmeljiščih, predstavljajo podzemne olesenele dele hmeljnih rastlin z brsti, ki jih je možno končno pregledati le v času rezi oz. nabiranja. Zato se v tem času opravi še zadnji vizualni zdravstveni pregled vsaj 3 % pridelanih sadik iz nasadov kategorije CMH in SMH, v okviru katerega se lahko odkrije prisotnost sistemske okužbe s hmeljevo peronosporo (*Pseudoperonospora humuli*), talnih gliv (*Verticillium*, *Fusarium*), ličink hroščev iz rodu *Othiorhynchus* ter zadebelitev, ki jih povzroča bakterija *Agrobacterium tumefaciens*. Prav tako se ob tem pregledu ugotovi število in tehnološka kakovost sadik (sadike z enim ali dvema vencema brstov, mehanske poškodbe ...).

Z namenom zagotavljanja neodvisnosti nadzora uradno potrjevanje matičnih rastlin hmelja kategorij IMR in OMR ter sadik CS_A izvaja certifikacijski organ na Kmetijskem inštitutu Slovenije, medtem ko uradno potrjevanje CMH, SMH in PH matičnih nasadov ter pridobljenih sadik v teh hmeljiščih izvaja certifikacijski organ na IHPS. Pregled sortne čistosti, zdravstvene preglede in vzorčenja na viruse opravljajo pooblaščen pregledniki IHPS, medtem ko laboratorijske analize opravlja Diagnostični laboratorij za varstvo rastlin na IHPS.

Zaključki

Vprašanja o kakovosti in proizvodni vrednosti certificiranega sadilnega materiala hmelja v strokovnih krogih nikoli niso bila sporna. Prav tako so prve certifikacije sadilnega materiala nastale na pobudo pridelovalcev ali njihovih organizacij, saj so le na ta način preprečevali širjenje škodljivih organizmov in zagotavljali sledljivost pridelave. Tudi vpeljava brezvirusnega sadilnega materiala hmelja v certifikacijsko shemo je povzročila višje in stabilnejše pridelke, ki opravičujejo ekonomske vložke države v vzgojo, testiranja in vzdrževanje visokokakovostnega sadilnega materiala. To še posebno velja za večje pridelovalke hmelja, med katerimi je tudi Slovenija. Problemi na področju sadilnega materiala se pojavijo pri hitrem spreminjanju sortne politike, ko nenadoma pride do pomanjkanja sadilnega materiala določenih sort ali ko finančna kriza sili pridelovalce v sajenje sadilnega materiala slabše kakovosti. K temu lahko pripomorejo tudi obdobja neorganiziranosti pridelovalcev, kar poslabša celovit pregled nad dejanskimi potrebami sadilnega materiala in posledično povzroča počasnejše reševanje problematike. V Sloveniji in vseh večjih pridelovalkah hmelja poteka vzgoja certificiranega brezvirusnega sadilnega materiala že več kot 30 let in je neposredno povezana tudi z žlahtnjenjem lastnih sort. Vpliv tega se sedaj kaže v znatno nižji zastopanosti virusov v primerjavi z obdobjem do 1980

ter s tem tudi v stabilnejši in konkurenčnejši pridelavi hmelja. Poleg Slovenije brezvirusna proizvodnja sadik hmelja že nekaj desetletij poteka še v Nemčiji, Angliji, Češki republiki, na Poljskem, v ZDA in Avstraliji, medtem ko so v Ukrajini brezvirusni program vpeljali nedavno. Kontinuiteta teh programov z vpeljanimi sistemi kakovosti je poleg osnovne proizvodnje pomembna tudi z vidika vzdrževanja primarnega genetskega materiala sort hmelja in preprečevanja pojava novih virusnih in viroidnih obolenj, ki se lahko v svetu globalnega trga zelo hitro širijo in nepričakovano pojavijo.

Viri

- Bock K. R. (1966). Arabis mosaic and Prunus necrotic ringspot viruses in hop (*Humulus lupulus* L.). *Annals of Applied Biology*, 57, 131–140.
- Dolinar M., 1975. Uvelost hmelja (*Verticillium albo-atrum* in *Verticillium dahliae*). Patologija hmelja – Poročilo za leto 1974. Žalec, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Žalec, 19 str.
- Dolinar M. (1984). Hmeljni virusi. Priloga za hmeljarstvo, Hmeljar, št. 1.
- Dolinar M. (1989). Razširjenost hmeljnih virusov v Sloveniji. VI. jugoslovanski simpozij za hmeljarstvo, Žalec, str. 239–249.
- Dolinar M. (1990). Hmeljni virusi, vzgoja in propagacija brezvirusnega hmelja. *Semenarstvo* 7 (90) 4, str. 209–212.
- Dolinar M. (1990). Ameriški hmeljev latentni virus (AHLV) na hmelju u Sloveniji. *Žaštita bilja*, 41(3)193, str. 321–324.
- Dolinar M. (1993). Vpliv ILAR virusov na pridelek in kakovost hmelja, reinfekcija in občutljivost različnih kultivarjev nanje. V: MAČEK, Jože (ur.). *Zbornik predavanj in referatov s 1. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin v Radencih od 24.–25. februarja 1993*. Ljubljana: Sekcija za varstvo rastlin pri Zvezi društev kmetijskih inženirjev in tehnikov Slovenije, 1993, str. 55–60.
- IHPS, 1976. Poročilo o delu za leto 1975. Inštitut za hmeljarstvo Žalec, 33 str.
- IHPS, 1981. Poročilo o delu za leto 1980. Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Žalec, 92 str.
- Kač M. (1967). Bolezni in škodljivci na hmelju. Žalec: Kmetijska proizvodna in poslovna zveza, str. 201.
- 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 Disease* 92 (3), 324–334.
- Sadar V., 1928. Hmeljarstvo. Maribor, Tiskarna sv. Cirila, 1928, 160 str.
- Zmrzlak M. (1995). Rast in razvoj brezvirusnega in z virusi okuženega Savinjskega goldinga. Hmeljne sadike. Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Žalec, str. 12–15.