



ÚSTŘEDNÍ KONTROLNÍ A ZKUŠEBNÍ ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝ



CITRUS BARK CRACKING VIROID

Odbor diagnostiky

Laboratoř virologie

Mgr. Šárka Linhartová, Ph.D.

tel.: 585 570 138

Šlechtitelů 773/23, 779 00 Olomouc

e-mail: sarka.linhartova@ukzuz.cz

www.ukzuz.cz



ÚVOD

Citrus bark cracking viroid (CBCVd) byl donedávna považován za méně rozšířený viroid na citrusových plodech s výskytem pouze v oblastech pěstování a produkce citrusových plodů, který nezpůsobuje vážné ekonomické škody. Často se vyskytuje ve směsných infekcích s dalšími viroidy napadajícími citrusy. CBCVd byl poprvé objeven v roce 1988 v rámci studie onemocnění exocortis citrusů ve vzorcích z Kalifornie a byl pojmenován jako Citrus viroid IV. O tři roky později byla publikována nukleotidová sekvence CBCVd ze vzorku zakrslého grapefruitu z Izraele. Na citronečníku trojlistém (*Poncirus trifoliata*) způsobuje infekce CBCVd praskání kůry, proto byl viroid v roce 2005 přejmenován na *Citrus bark cracking viroid*. CBCVd byl mechanickou inokulací potvrzen jako patogen většiny rostlinných druhů r. *Citrus*.

V roce 2007 byla ve Slovinsku v oblasti Šempeter (údolí řeky Savinja) pozorována závažná a velmi rychle se šířící poškození chmele, projevující se silnou zakrslostí a následně úhynem infikovaných rostlin. Podobné příznaky způsobuje i viroid zakrslosti chmele (*Hop stunt viroid* – HSVd), choroba se však projevovala kratší inkubační dobou, rychlejším šířením a celkově vyšší agresivitou. Studie s použitím sekvenování nové generace (Next generation sequencing – NGS) prokázaly přítomnost CBCVd. HSVd byl ve vzorcích infikovaných rostlin nalezen také, hlavní příčinou onemocnění ve Slovinsku je však CBCVd, HSVd je pravděpodobně neaktivní vzhledem k antagonistickému vztahu s CBCVd. V následujících letech byly provedeny kontroly porostů v dalších oblastech Slovinska. Do roku 2016 byla choroba zjištěna v dalších 21 farmách, z nichž většina se nachází v okolí Žalce a poblíž primárního zamoření v údolí řeky Savinja. Chmel je tedy novým a velmi citlivým hostitelem toho viroidu. Výskyt patogenu ve Slovinsku znamená přítomnost viroidu v nové oblasti mimo produkční oblasti citrusových plodů.

TAXONOMICKÉ ZAŘAZENÍ

CBCVd patří do čeledi *Pospiviroidae*, rod *Cocadviroid*. Do stejného rodu patří např. i latentní viroid chmele (*Hop latent viroid*).

HOSTITELSKÉ SPEKTRUM

Hlavními přirozenými hostiteli jsou citrusy (*Citrus* spp., *Poncirus trifoliata* – citronečník trojlistý) a chmel (*Humulus lupulus*). Uměle byly infikovány také rostliny z čeledi routovité (*Rutaceae*), např. kumkváty *Fortunella margarita*, *F. crassifolia* a *F. obovata*, *Citrus warburgiana*, *C. australis* x *C. australasica*, *Severinia buxifolia* a také další indikátorové rostliny: okurka setá (*Cucumis sativus*), beninkasa voskonosná (*Benincasa hispida*), rajče jedlé (*Solanum lycopersicum*), lilek vejcoplodý (*Solanum melongena*), listopadka zahradní (*Chrysanthemum morifolium*).



Obr. 1 – Hlávky rostliny chmele cv. *Celeia* infikované CBCVd (vlevo), hlávky zdravé rostliny (vpravo)

ZEMĚPISNÉ ROZŠÍŘENÍ

CBCVd je rozšířen v oblastech pěstování citrusů. V Africe se vyskytuje v Egyptě, Súdánu, Tunisku a ve státech jižní Afriky. Z asijských zemí se vyskytuje v Číně, Izraeli, Íránu, Japonsku, Ománu. Na citrusech byl zjištěn také ve Spojených státech amerických (Kalifornie, Texas) a na Kubě. V Evropě se na rostlinách rodu *Citrus* vyskytuje v Itálii a Řecku. Na chmelu byl CBCVd dosud zjištěn pouze ve Slovinsku.

PŘENOS

Infekce CBCVd je systémová, což znamená, že viroid je přítomen ve všech orgánech infikovaných rostlin. Viroidy se přenáší vegetativním množením, roubováním, kontaktem mezi rostlinami a mechanicky rostlinnou šťávou infikovaných rostlin. Kontaminovány mohou být nástroje a stroje používané k agrotechnickým opatřením, ale také oděv a ruce pracovníků. Kritickým bodem šíření je manipulace s rostlinami během jarního období, při kterém dochází k největšímu mechanickému poškození rostlin. V letním období, kdy je koncentrace CBCVd v pletivech rostlin nejvyšší, dochází k přenosu kontaktem mezi infikovanými a neinfikovanými rostlinami. Testy přenosu pylem a semenem nebyly provedeny, ale předpokládá se, že viroid není přenosný generativními orgány, případně jen ve velmi nízkém procentu. Viroidy mohou být přenášeny také vodou v hydroponických systémech. Viroidy mohou být ve vzácných případech přenášeny hmyzími vektory nebo pavoukovci. CBCVd byl detekován také ve svilušce chmelové (*Tetranychus urticae*), ale přenos viroidu z infikovaných na neinfikované rostliny chmele nebyl prokázán.

PŘÍZNAKY CBCVd

Příznaky infekce CBCVd na citrusech nejsou závažné. Dle studií se viroid obvykle vyskytuje ve směsných infekcích s jinými viroidy infikujícími citrusy,



Obr. 2 – Žloutnutí a stáčení listů rostliny infikované CBCVd

jen velmi vzácně se vyskytuje ve formě autonomní infekce. CBCVd však působí závažné příznaky na chmelu. Rostliny chmele infikované CBCVd jsou zakrslé, což je způsobeno zkrácením internodií lodyhy a bočních výhonů (pazochů), listy žloutnou a stáčí se směrem dolů. Infekce způsobuje také suché kořenové hniloby a abnormální vývoj hlávek. První příznaky onemocnění CBCVd se objevují přibližně 4–12 měsíců po infekci, poté rostliny během 3–5 let odumírají. První známky onemocnění se objevují na počátku června (zaostávání v růstu). U rostlin, které byly infikovány dříve nebo u těch, které byly pěstovány z nakažených sazenic, se příznaky objevují dříve. V postižených chmelnicích se CBCVd šíří velmi rychle, udává se až 20 % nově nakažených rostlin ročně.

DETEKCE

Pro detekci viroidů lze využít řadu metod, např. biologické testy na indikátorových rostlinách, metodu molekulární hybridizace, elektroforézu na polyakrylamidovém gelu (PAGE), polymerázovou řetězovou reakci s reverzní transkripcí (RT-PCR) a kvantitativní RT-PCR detekci v reálném čase. Při rutinní diagnostice se nejčastěji využívá RT-PCR. Důležitou součástí diagnostické analýzy je izolace ribonukleové kyseliny (RNA) viroidu z infikovaných rostlin, nejčastěji s využitím komerčních izolačních kitů.

OCHRANA

Základem je používání a produkce zdravého rozmnožovacího materiálu chmele. Vzhledem ke snadnému přenosu CBCVd je v oblastech s výskytem viroidu nezbytná dezinfekce nástrojů používaných při agrotechnických opatřeních. Prokázalo se, že CBCVd přežívá na kontaminovaných površích až 14 dní. Důležitá je také okamžitá likvidace napadených rostlin ihned po objevení prvních příznaků onemocnění. Doporučuje se i likvidace rostlin v bezprostřední blízkosti infikované rostliny (alespoň dvou sousedních rostlin). Lze totiž předpokládat, že tyto rostliny jsou také infikovány, ale neprojevíly se u nich zatím příznaky. Nutná je důsledná likvidace posklizňových zbytků. CBCVd přežívá v posklizňových zbytcích až 2 měsíce, v kořenech i v případě použití totálního herbicidu až 10 měsíců.

FYTOSANITÁRNÍ OPATŘENÍ

CBCVd není uveden v přílohách vyhlášky č. 215/2008 Sb., o opatřeních proti zavlečení a rozšiřování škodlivých organismů rostlin a rostlinných produktů, ve znění pozdějších předpisů, jako regulovaný škodlivý organismus. Je však zařazen v Seznamu A2 Evropské a středozemní organizace pro ochranu rostlin (EPPO), v němž jsou uvedeny škodlivé organismy, které se vyskytují na území členských států EPPO a které organizace doporučuje členským státům regulovat jako karanténní škodlivé organismy. Vzhledem k závažným škodám na chmelu se jedná o patogen, který může představovat vysoké riziko pro evropskou i celosvětovou produkci chmele.

V důsledku potvrzeného výskytu CBCVd na chmelu přijalo Slovinsko v roce 2015 rozhodnutí o mimořádných opatřeních k zabránění zavlečení a šíření HSVd a CBCVd. Mezi opatření patří např. zničení infikovaných a příznakových rostlin, i rostlin ve stejném řádku do vzdálenosti 2 m od napadených rostlin. V případě, že je napadeno více než 20 % rostlin, se nařizuje eradikace celé chmelnice. K dalším opatřením patří zákaz prodeje rostlin chmele určených k pěstování ze zamořených farem, dodržování přísných hygienických opatření v souvislosti s nakládáním s rostlinnými zbytky a s používáním strojů a nástrojů a omezení používání mechanizace. Ve Slovinsku pokračuje intenzivní průzkum výskytu CBCVd a zavedeno bylo testování na výskyt viroidů při certifikaci rozmnožovacího materiálu chmele.



Obr. 4 a 5 – Silně zakrslé rostliny infikované CBCVd

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (ÚKZÚZ) zahájil v roce 2017 detekční průzkum výskytu CBCVd na území České republiky. Tento průzkum je zařazen do programu průzkumu spolufinancovaného Evropskou komisí. U žádného z analyzovaných vzorků nebyla prozatím potvrzena přítomnost CBCVd.

*Text: Mgr. Šárka Linhartová, Ph.D., ÚKZÚZ, Odbor diagnostiky, Laboratoř virologie
RNDr. Kateřina Tománková, Ph.D., ÚKZÚZ, Odbor diagnostiky, Laboratoř biochemie*

*Autor fotografií: dr. Sebastjan Radišek,
Slovenian Institute for Hop Research and Brewing, Žalec, Slovenia*