

INSTYTUT UPRAWY NAWOŻENIA  
I GLEBOZNAWSTWA  
PAŃSTWOWY INSTYTUT  
BADAWCZY



**STUDIA  
I  
RAPORTY  
IUNG - PIB**

13

**PROGRAM WIELOLETNI**

2005–2010

PUŁAWY, 2008

**TWORZENIE POSTĘPU  
BIOLOGICZNEGO W HODOWLI  
TYTONIU I CHMIELU**

KSZTAŁTOWANIE  
ŚRODOWISKA ROLNICZEGO POLSKI  
ORAZ ZRÓWNOWAŻONY ROZWÓJ  
PRODUKCJI ROLNICZEJ

INSTYTUT UPRAWY NAWOŻENIA I GLEBOZNAWSTWA  
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY

Dyrektor: *prof. dr hab. Seweryn Kukula*

Redaktor: *doc. dr hab. Adam Harasim*

Recenzenci: *prof. dr hab. Stanisław Berbeć*  
*prof. dr hab. Mirosława Chrzanowska*  
*prof. dr hab. Czesław Szewczuk*  
*dr Andrzej Zaliwski*

Opracowanie redakcyjne i techniczne: *dr Irena Marcinkowska*

ISBN 978-83-7562-010-8

*Egzemplarz bezpłatny*

Nakład 250 egz., B-5, zam. 76/F/08  
Dział Upowszechniania i Wydawnictw IUNG - PIB w Puławach  
tel. (081) 8863421 w. 301 i 307; fax (081) 8864547  
e-mail: [iung@iung.pulawy.pl](mailto:iung@iung.pulawy.pl); <http://www.iung.pulawy.pl>

TWORZENIE POSTĘPU  
BIOLOGICZNEGO W HODOWLI  
TYTONIU I CHMIELU



## SPIS TREŚCI

Wstęp .....	7
1. Teresa Doroszewska – Charakterystyka i występowanie wirusa Y ziemniaka (PVY) sprawcy brunatnej nekrozy nerwów tytoniu .....	9
2. Teresa Doroszewska, Anna Czubačka – Ocena odporności odmian i linii hodowlanych tytoniu na wirusa Y ziemniaka (PVY) .....	29
3. Dorota Laskowska – Charakterystyka groźnej choroby tytoniu – brązowej plamistości pomidora i rola wektora w jej przenoszeniu .....	43
4. Apoloniusz Berbeć – Znaczenie użytkowe i wartość kombinacyjna nowych linii ustalonych i mieszańców tytoniu typu Virginia .....	51
5. Anna Trojak-Goluch – Aktualne i potencjalne możliwości uprawy tytoniu w warunkach występowania czarnej zgnilizny korzeni .....	63
6. Anna Trojak-Goluch, Apoloniusz Berbeć – Przydatność nowych kontaktowych i systemicznych środków chemicznych do usuwania pędów bocznych tytoniu .....	75
7. Urszula Skomra – Główne kierunki hodowli chmielu w Polsce i na świecie .....	85
8. Teresa Doroszewska, Urszula Skomra, Marcin Przybyś, Anna Czubačka, Magdalena Grudzińska-Sterno – Uzyskiwanie zdrowych sadzonek chmielu jako element restrukturyzacji odmianowej .....	97
9. Urszula Skomra – Mączniak prawdziwy – groźna choroba chmielu .....	111
10. Jerzy Dwornikiewicz, Czesław Pietruch, Jerzy Kozyra – System sygnalizacji zagrożenia plantacji chmielu przez mączniaka rzekomego .....	121
11. Mieczysław Stasiak – Wpływ metody zakładania plantacji chmielu na plon szyszek i zawartość alfa kwasów .....	131

## Wstęp

Uprawa chmielu i tytoniu w Polsce, podobnie jak innych roślin, poddana jest procesowi dostosowywania ekonomicznych celów plantatorów do wymogów ekologicznych i społecznych. W związku z tym muszą być uwzględnione takie przesłanki, jak ochrona środowiska i w jej obrębie trwały i zrównoważony rozwój, koncentracja uprawy chmielu i tytoniu, często w rejonach krajobrazu chronionego, a także uprawa chmielu w jednym miejscu w okresie około dwudziestu lat.

W Instytucie Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowym Instytucie Badawczym w Puławach prowadzone są od lat wieloaspektowe badania z zakresu hodowli nowych odmian chmielu i tytoniu oraz doskonalenia technologii produkcji. Wyniki badań w postaci nowych odmian oraz zrównoważonych elementów agrotechniki upowszechniane są w praktyce produkcyjnej w sposób ciągły.

Od początku realizacji w IUNG-PIB wieloletniego programu pt. „Kształtowanie środowiska rolniczego Polski oraz zrównoważony rozwój produkcji rolniczej”, tj. od 2005 roku, kompleks badań nad chmielem i tytoniem prowadzony jest zarówno w ramach działalności statutowej, jak i w obrębie zadań programu wieloletniego dotyczących opracowania i wdrażania systemów oraz technologii pozyskiwania surowców roślinnych o pożądanej jakości, bezpiecznych dla zdrowia ludzi i zwierząt.

Niniejszy zeszyt z serii „Studia i Raporty IUNG-PIB” zawiera opracowania wykonane w ramach zadania nr 2.7 pt. „Tworzenie postępu biologicznego w hodowli chmielu i tytoniu oraz jego wykorzystanie w systemie zrównoważonego rolnictwa”. Prezentowane opracowania w swojej idei służą wspomaganie decyzji plantatorów w zakresie doboru i uprawy nowych i bardziej odpornych na choroby odmian, biologii rozwoju, zapobiegania oraz zwalczania głównych chorób chmielu i tytoniu itp.

Zamieszczone w niniejszym zeszycie zagadnienia prezentowane były przez pracowników naukowych Zakładu Hodowli i Biotechnologii Roślin IUNG-PIB na wielu szkoleniach i seminariach organizowanych w rejonach uprawy chmielu i tytoniu przez regionalne Ośrodki Doradztwa Rolniczego i zrzeszenia producentów.

Niektóre zagadnienia realizowane w ramach zadania 2.7 są aktualnie przedmiotem wdrażania i upowszechniania w praktyce produkcyjnej, jak np.: nowe odmiany chmielu (w tym wyprodukowanie uwolnionych od wirusów i wiroida sadzonek na ok. 150 ha), nowe odmiany tytoniu (w tym produkcja nasion na ok. 35% aktualnej powierzchni uprawy w kraju), komputerowy system sygnalizacji zagrożenia plantacji chmielu przez mączniaka rzekomego na podstawie danych o pogodzie (rejon gminy Wilków).

W działaniach upowszechnieniowych podkreślamy miejsce chmielu i tytoniu w szerszym rozumianym agroekosystemie oraz rolę plantatorów w realizacji zasad zrównoważonego rozwoju produkcji roślinnej.

*Kierownik zadania 2.7  
dr Jerzy Dwornikiewicz*

**Teresa Doroszevska**

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy  
w Puławach*

## CHARAKTERYSTYKA I WYSTĘPOWANIE WIRUSA Y ZIEMNIAKA (PVY) SPRAWCY BRUNATNEJ NEKROZY NERWÓW TYTONIU\*

### Wstęp

Wirus Y ziemniaka, *Potato virus Y* (PVY), a zwłaszcza jego nekrotyczne szczepy, powodują brunatną nekrozę nerwów liści tytoniu. Nekroza nerwów hamuje transport wody i soli mineralnych do tkanek liści, zaś nekroza blaszki liściowej ogranicza powierzchnię i zdolność asymilacyjną oraz wymianę gazową, a tym samym wzrost roślin (52). Obniża to jakość wysuszonego surowca, co w połączeniu z małym plonem przynosi ogromne straty producentom tytoniu. Obecność wirusa Y wpływa niekorzystnie na szlaki metaboliczne, prowadząc do wzrostu zawartości azotanów w liściach (45).

Poza tytoniem PVY infekuje wiele roślin uprawnych z rodziny *Solanaceae*, w szczególności ziemniaka, pomidora, paprykę oraz niektóre dzikie gatunki roślin. Wektorem przenoszącym nekrotyczne szczepy wirusa są mszyce, głównie *Myzus persicae* (47). Sposób przenoszenia wirusa określany jest jako nietrwały (na kłujce owada), co sprawia, że infekcja następuje bardzo szybko, zanim zaczną działać środki owadobójczy. Dlatego też zwalczanie mszyc nie ogranicza w sposób dostateczny rozwoju choroby. Najbardziej odpowiednią metodą przeciwdziałania jej rozwojowi jest wprowadzanie do uprawy odmian odpornych. Poszukiwanie źródeł odporności, efektywnych w zetknięciu z nowymi izolatami występującymi w Polsce i na świecie, może być skuteczne jedynie dla zdefiniowanych patogenów. Z tego względu niezwykle ważnym aspektem jest dokładna charakterystyka i stosunkowo jednolita nomenklatura występujących szczepów i izolatów PVY.

### Budowa genomu PVY

*Potato virus Y* jest przedstawicielem rodzaju *Potyvirus* należącego do rodziny *Potyviridae*, najliczniej reprezentowanej i najważniejszej pod względem ekonomicznym grupy wirusów roślinnych. PVY, podobnie jak inne wirusy z rodzaju *Potyvirus*, to cząstki jednoniciowe o długości 680-900 nm i średnicy 12-15 nm (51).

---

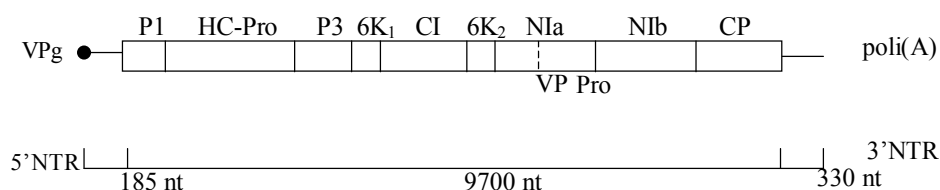
\* Opracowanie wykonano w ramach zadania 2.7 w programie wieloletnim IUNG - PIB

Genom PVY stanowi pojedyncza sensowa nić RNA o długości około 9700 nukleotydów (rys. 1; 41). Na końcu 5' cząstki RNA znajduje się kowalencyjnie związane białko VPg (ang. Viral Protein genome linked), zaś koniec 3' jest poliadenylowany (41). Całość otoczona jest białkowym płaszczem CP (ang. Coat Protein); (19). Genom wirusa zawiera jedną długą, otwartą ramkę odczytu kodującą poliproteinę oraz dwa regiony niekodujące – 5'NTR i 3'NTR (43, 51). Na pierwszym etapie ekspresji genetycznej, po wnikięciu do komórki, wirus koduje syntezę poliproteiny, która ulega następnie proteolizie dokonywanej przez własne proteazy wirusa, prowadzącej do powstania czynnych białek wirusowych (10).

Płaszcz wirusa zbudowany jest z około 2000 kopii białka CP (37). Główną rolą białek CP jest opłaszczanie nici wirusowego RNA, wokół których tworzą zwartą strukturę helikalną (51). Białka CP biorą też udział w przenoszeniu wirusa przez mszyce oraz przemieszczaniu się wirusa między sąsiadującymi komórkami i tkanką naczyniową (15).

Na końcu 5' nici RNA znajduje się niekodujący region (5'NTR) bogaty w adeninę. Z 5'NTR sprzężone jest kowalencyjnie białko VPg. Na końcu 3' nici RNA znajduje się drugi region niekodujący (3'NTR), który bierze udział w inicjacji syntezy nici RNA i indukcji symptomów w zainfekowanej roślinie (19). Na końcu 3' regionu 3'NTR znajduje się ogon poli(A); (41), chroniący nić RNA przed działaniem endonukleaz.

Różnorodność wirusów RNA wiąże się przede wszystkim z dużym współczynnikiem błędu polimerazy RNA zależnej od RNA, czego efektem są mutacje punktowe w genomach wirusowych (20). Polimerazy RNA są mutagenne z powodu obniżonej wierności replikacji i braku aktywności naprawczej (39). Inną przyczyną różnorodności wirusów RNA jest RNA-RNA rekombinacja. Szacuje się, że naturalnie pojawiające się rekombinanty stanowią 8-17% całej przebadanej populacji wirusów (1, 40). Ogromna różnorodność wirusów RNA i duża częstotliwość rekombinacji jest źródłem zmian w funkcjonowaniu wirusów i zapewnia im optymalne przystosowanie do szerokiej gamy gospodarzy i skutecznego przełamania mechanizmów obronnych roślin.



Rys. 1. Organizacja genomu wirusa Y ziemniaka. Kółko przedstawia kowalencyjnie związane białko VPg na 5' końcu RNA wirusa. Pojedyncze czarne linie odpowiadają regionom niekodującym: 5'NTR (185 nt) oraz 3'NTR (330 nt). Ramka wewnętrzna obejmuje część genomu kodującego poliproteinę oraz powstające ko- i potranskrypcyjnie białka: P1 (proteaza), HC-Pro (proteaza), P3 (trzecie białko), 6K<sub>1</sub>, 6K<sub>2</sub> (polipeptydy 6kDa), CI (białko inkluzji cylindrycznej), NIa (małe białko inkluzji jądrowych, w jego skład wchodzi: białko związane z genomem – VPg i proteaza – Pro), NIb (duże białko inkluzji jądrowych), CP (białko płaszcza)

Źródło: Chachulska A. M., 1998 (11).

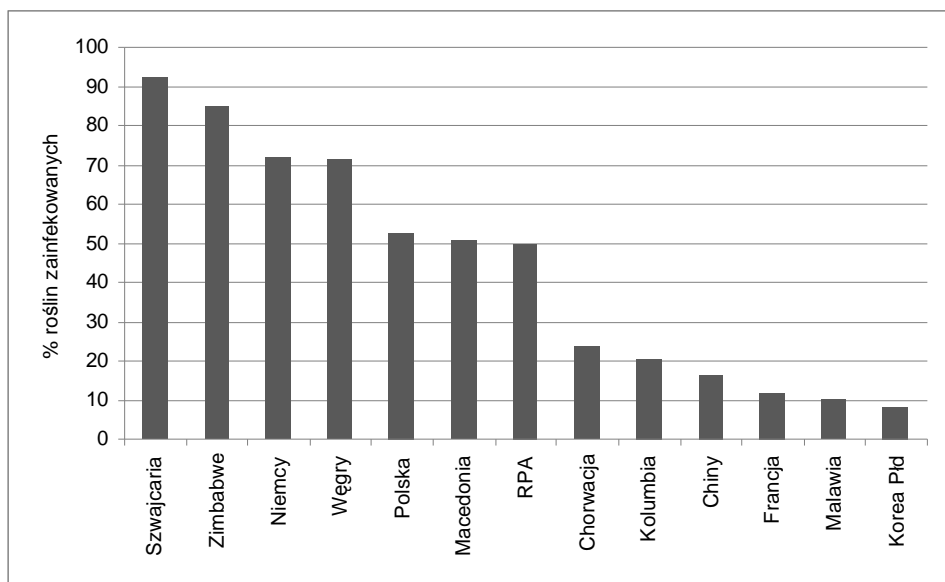


### Występowanie PVY i objawy chorobowe na tytoniu

Nazwę *Potato virus Y* (PVY) wprowadził po raz pierwszy Smith w 1931 roku, który wykazał, że wiele chorób wirusowych ziemniaka wywoływanych jest przez kombinacje wirusów o różnych właściwościach (44). Dwa z nich nazwał odpowiednio X i Y (za Lucasem, 30). Pierwsze w Europie obserwacje nekrozy nerwów tytoniu powodowanej przez PVY zanotowano w latach czterdziestych (35). Następne doniesienia o wirusowej nekrozie liści tytoniu wywołanej przez PVY pochodzą z Niemiec, gdzie objawy infekcji tytoniu obserwowano w 1951 roku (5, 8). W Polsce choroba ta została wykryta po raz pierwszy przez J. Berbecia w 1956 roku, a już w latach 1958–1959 przyjęła rozmiary epifitozy, powodując duże straty na plantacjach tytoniu (4). Wirusową nekrozę liści tytoniu stwierdzono w tym samym czasie w Szwajcarii i poczyniono próby wstępnej charakterystyki szczepów PVY (2). Szybki rozwój choroby był szczególnie widoczny w rejonach uprawy tytoniu, gdzie ziemniak zajmował duży areal (28). Występowanie choroby powodowanej przez PVY stwierdzono także w południowych stanach Ameryki Północnej, szczególnie na Florydzie oraz w Ameryce Środkowej (30). Choroba rozprzestrzeniała się szybko, infekując rośliny w większości krajów świata. Obecny zasięg PVY obejmuje wszystkie kontynenty, a choroba powoduje duże straty w plonowaniu wielu roślin uprawnych (14, 17, 18, 32, 36).

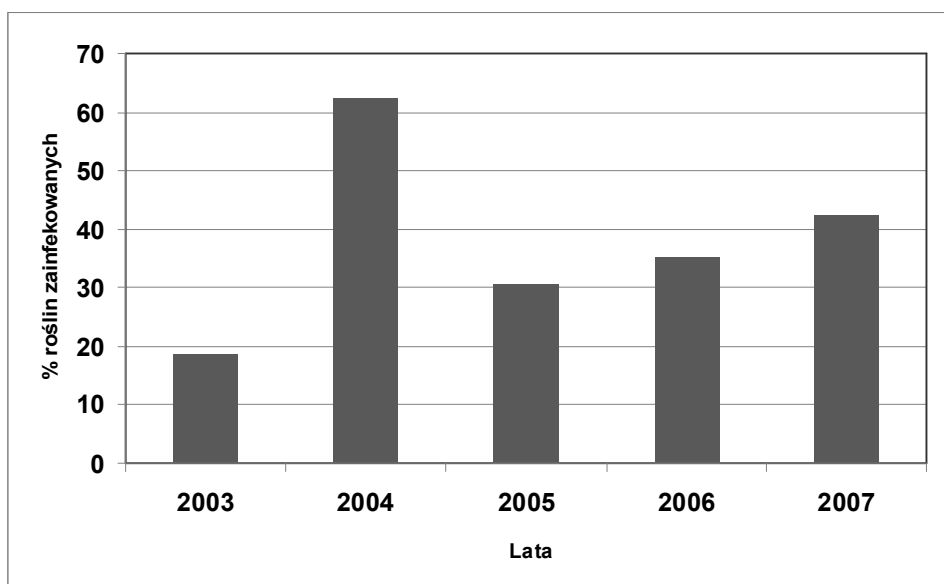
Prowadzone wieloletnie badania nad występowaniem PVY w uprawach tytoniu w różnych rejonach świata dostarczają wielu informacji. Badania realizowane są w ramach międzynarodowej organizacji CORESTA (Cooperation Centre for Scientific Research Relative to Tobacco) w programie „Sub-Group Collaborative Study on *Potato virus Y*”, koordynowanym przez autorkę od 2003 r. Podstawą oceny występowania wirusa Y ziemniaka na tytoniu jest stopień porażenia odmian według zestawu wysyłanego co rok do uczestników programu w różnych krajach. Zestaw zawiera pięć odmian podatnych, pozwalających ocenić problem występowania wirusa oraz pięć odmian niosących określone źródła odporności, infekcja których wskazuje na występowanie izolatów zdolnych do przełamania istniejących źródeł odporności w obrębie tytoniu uprawnego (18).

W okresie ostatnich pięciu lat na podstawie nekrotycznych objawów na odmianach podatnych stwierdzono, że największe porażenie tytoniu przez PVY wystąpiło w Szwajcarii, Zimbabwie, Niemczech, na Węgrzech, w Polsce, Macedonii i RPA (rys. 2). Nasilenie występowania PVY podlega dość dużym wahaniom w poszczególnych latach, co ma związek z warunkami pogodowymi i rozwojem populacji mszyc. Uwzględniając kraje europejskie (Szwajcarię, Niemcy, Polskę, Węgry, Francję, Chorwację i Macedonię) widać wyraźnie, że najniższy poziom infekcji odmian podatnych przez PVY miał miejsce w 2003 r., natomiast w roku następnym wzrósł ponad trzykrotnie (rys. 3). W ciągu ostatnich trzech lat poziom infekcji wykazuje tendencję wzrostową. Badania dotyczące Polski, prowadzone z tym samym zestawem odmian testowych, obejmują znacznie dłuższy okres (12 lat) i również wskazują na duże zróżnicowanie w poszczególnych latach (rys. 4). Bardzo wysoki poziom porażenia roślin wystąpił



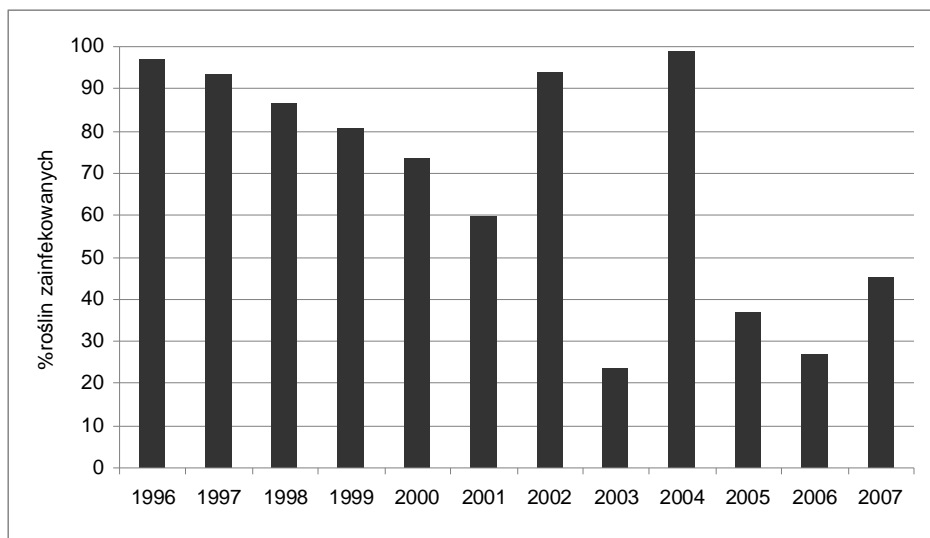
Rys. 2. Występowanie wirusa Y ziemniaka na podatnych odmianach tytoniu

Źródło: Opracowanie własne na podstawie badań w programie CORESTA „Sub-Group Collaborative Study on PVY” koordynowanych przez autorke.



Rys. 3. Poziom infekcji wirusem Y ziemniaka podatnych odmian tytoniu w kilku krajach Europy w latach 2003–2007

Źródło: Opracowanie własne na podstawie badań w programie CORESTA „Sub-Group Collaborative Study on PVY” koordynowanych przez autorke.



Rys. 4. Występowanie wirusa Y ziemniaka na podatnych odmianach tytoniu w Polsce w latach 1996–2007

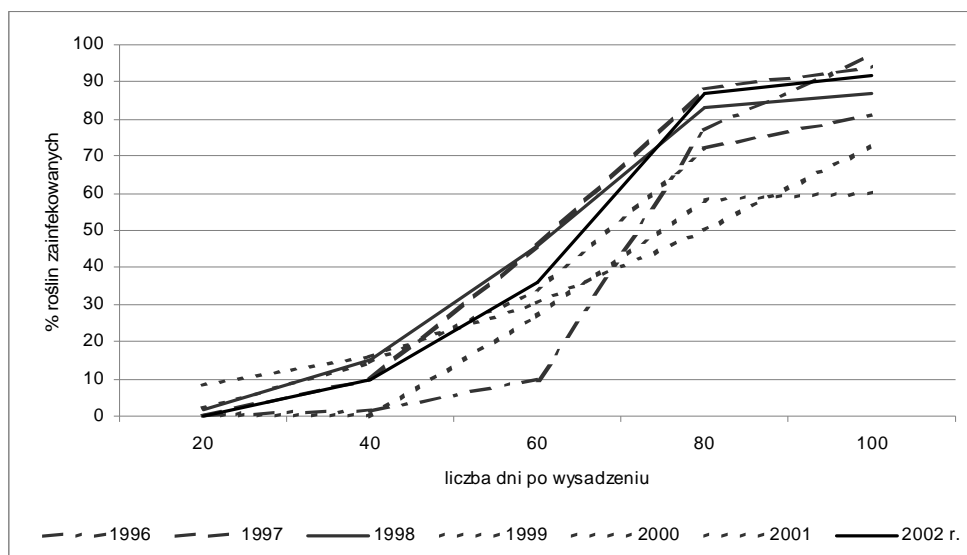
Źródło: Opracowanie własne.

w latach 1996–1998 i sięgał powyżej 80%, a następnie do roku 2001 widoczny był systematyczny spadek infekcji odmian tytoniu. W latach następnych obserwuje się zróżnicowanie występowania PVY w Polsce, podobnie jak w innych krajach Europy.

W warunkach Polski pierwsze objawy chorobowe na tytoniu powodowane przez wirusa Y ziemniaka widoczne są na ogół w drugiej połowie czerwca, około 3-4 tygodni po wysadzeniu roślin w polu. Najbardziej intensywny rozwój infekcji obserwuje się w okresie 40-80 dni od wysadzenia roślin, od około 10 lipca do połowy sierpnia (rys. 5). Obserwowano również nowe infekcje pod koniec sierpnia, lecz częstotliwość ich występowania bywa znacznie mniejsza, a objawy widoczne były głównie na pędach bocznych (pasynkach).

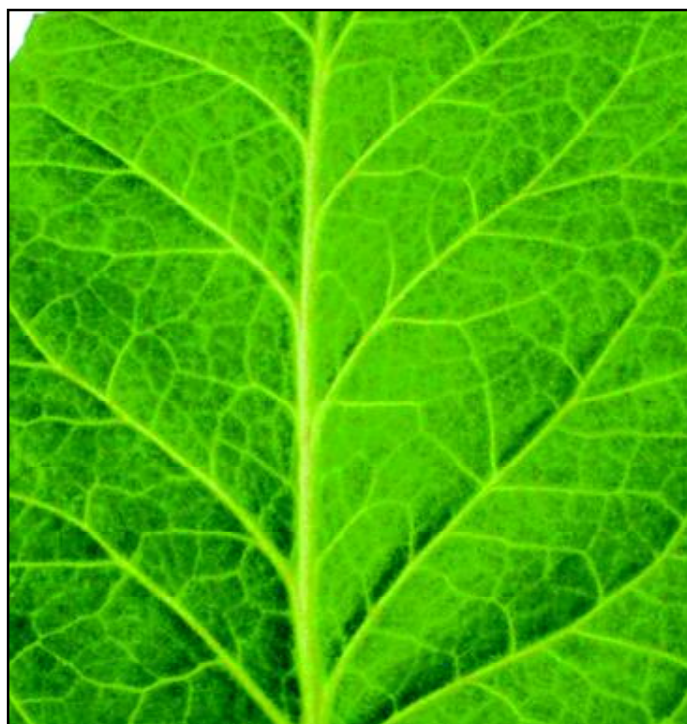
Pierwsze objawy porażenia roślin widoczne są jako przejaśnienia nerwów (rys. 6) przechodzące następnie w nekrozy (rys. 7). Często występują też chlorotyczne plamy i pierścienie (rys. 8). W przypadku odmian tolerancyjnych przejaśnienia nerwów i chlorotyczne plamy utrzymują się przez cały okres wegetacji. U odmian podatnych dalszy rozwój infekcji uwiadcza się silną nekrozą nerwów liści (rys. 9) i niekiedy pędu oraz żółknięciem i chlorozą blaszki liściowej (rys. 10 i 11).

Biorąc pod uwagę fakt, że objawy nekrotyczne są bardzo silne i surowiec uzyskany z roślin porażonych nie ma żadnej wartości wykupowej, widać wyraźnie, że uprawa odmian podatnych zarówno w Polsce, jak też w wielu innych krajach nie jest możliwa. Efektem wielu lat pracy hodowców było uzyskanie odmian zawierających określone czynniki odporności. Odpowiedzią ze strony patogena są jego nowe formy, bardziej wirulentne, zdolne do przełamania istniejących źródeł odporności. Takie



Rys. 5. Rozwój infekcji PVY w naturalnych warunkach polowych na podatnych odmianach tytoniu w Puławach

Źródło: Opracowanie własne.



Rys. 6. Przejaśnienia nerwów

Źródło: Dokumentacja własna.



Rys. 7. Początek nekrozy nerwów

Źródło: Dokumentacja własna.



Rys. 8. Chlorotyczne plamy i pierścienie

Źródło: Dokumentacja własna.



Rys. 9. Nekroza nerwów

Źródło: Dokumentacja własna.



Rys. 10. Postępująca nekroza nerwów i żółknięcie blaszki liściowej

Źródło: Dokumentacja własna.



Rys. 11. Nekroza nerwów i nekrotyczne plamy na blaszce liściowej  
Źródło: Dokumentacja własna.

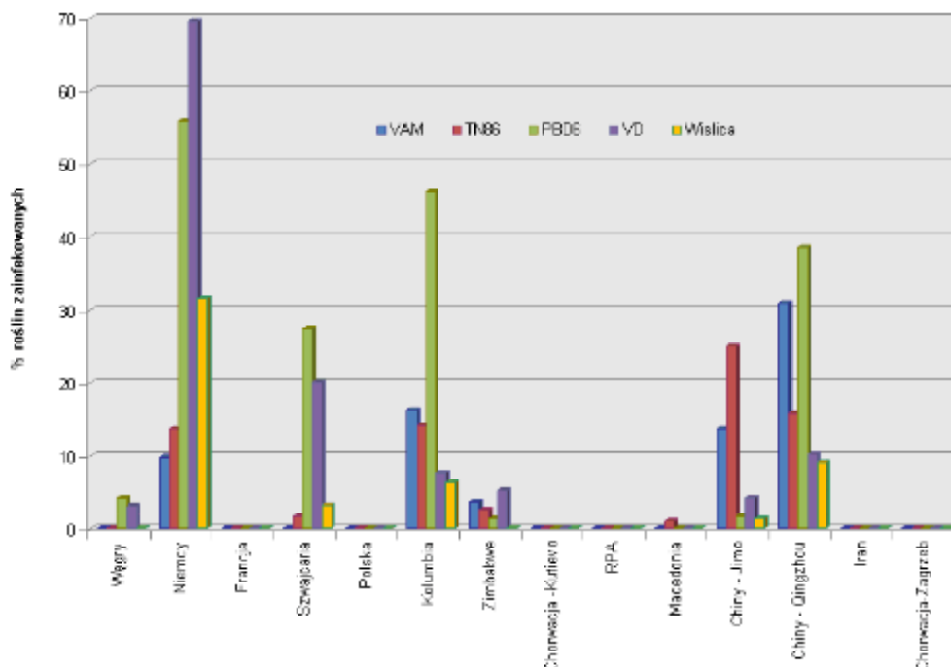
izolaty pojawiają się coraz częściej w uprawach tytoniu w Polsce (tab. 1) i na świecie (17, 18, 46). Dane z roku 2007 r. wskazują, że najwyższy stopień porażenia odmian uznawanych dotychczas za odporne miał miejsce w Niemczech oraz w Szwajcarii, Kolumbii i w Chinach (rys. 12).

Tabela 1

Izolaty PVY zebrane z odmian i linii hodowlanych tytoniu w latach 1999–2002

Miejsce pochodzenia izolatu	Liczba izolatów		
	ogółem	wykrywalnych tylko przez MoAbs anti Y	wykrywalnych przez MoAbs anti Y i MoAbs anti Y <sup>N</sup>
Augustów	7	6	1
Grudziądz	10	9	1
Jędrzejów	24	16	8
Lublin	6	5	1
<b>Razem</b>	<b>47</b>	<b>36</b>	<b>11</b>

Źródło: Doroszevska T., 2004 (17).



Rys. 12. Udział zainfekowanych roślin pięciu odmian tytoniu o typie odporności *va* w różnych krajach w 2007 r.

Źródło: Opracowanie własne na podstawie badań w programie CORESTA „Sub-Group Collaborative Study on PVY” koordynowanych przez autorkę.

### Charakterystyka oraz klasyfikacja szczepów i izolatów PVY

Stosowana ogólnie nomenklatura, przyjęta głównie w odniesieniu do PVY jako patogena ziemniaka, wyróżnia trzy podstawowe grupy: PVY<sup>0</sup> (zwykły szczep), niewywołujący objawów nekrotycznych na tytoniu, jedynie mozaikę i przejaśnienia nerwów; PVY<sup>C</sup>, nieprzenoszony przez mszyce *Myzus persicae* i wywołujący nienekrotyczne objawy na tytoniu oraz PVY<sup>N</sup> powodujący nekrozę nerwów tytoniu (14). Pod względem gospodarczym ten szczep ma największe znaczenie w uprawach tytoniu. Z uwagi na dużą różnorodność izolatów tytoniowych należących do PVY<sup>N</sup> stosuje się często klasyfikacje oparte o różne kryteria.

W USA opisano cztery szczepy PVY występujące na tytoniu: MM, MN, NN i VAM-B (25). Różnice pomiędzy poszczególnymi szczepami oparte są na podatności bądź odporności odmian na PVY oraz na nicienie (26). We Francji B l a n c a r d i in. (6, 7) opisali trzy szczepy nekrotyczne PVY: Typ 1, Typ 2 i Typ 3 oraz zaproponowali system klasyfikacji w oparciu o zdolności przełamania odporności tytoniu warunkowane pojedynczym recesywnym genem *va* i częściowo dominującym *VR*. Różne systemy klasyfikacji stosowano też na Węgrzech (34), w Japonii (53) i RPA (48, 49). Badania przeprowadzone w Kanadzie uwzględniały szczepy PVY pochodzące z tyto-



niu, papryki i ziemniaka. Mc Donald i Kristjansson (32) dostrzegli potrzebę porównania szczepów infekujących różne rośliny użytkowe i podjęli próbę ich charakterystyki w oparciu o te same kryteria.

Poza nekrotycznym szczepem PVY<sup>N</sup> zidentyfikowanym na tytoniu w Polsce w 1956 roku, który infekował uprawiane wówczas odmiany (4) w 1971 roku został wyizolowany i opisany przez Gajosa (22) szczep „nekrotyczny zjadliwy” – PVY<sup>NZ</sup>, infekujący większość krajowych i zagranicznych odmian tytoniu. Szczep ten mimo swojej wirulencji nie rozprzestrzenił się masowo w uprawach tytoniu, co wynikało najprawdopodobniej z braku zdolności do infekowania ziemniaka. Ziemniak uznawany jest za główne źródło infekcji dla tytoniu (31), zabezpieczając warunki przetrwania PVY. Polska jest krajem o dużym areale uprawy ziemniaka, co stwarza określone konsekwencje dla uprawy tytoniu.

Prowadzone wieloletnie badania we współpracy z IHAR, Oddział w Młochowie, polegające na testowaniu izolatów pochodzących z ziemniaka na tytoniu i izolatów tytoniowych na ziemniaku dostarczyły wielu cennych informacji (12, 13). Były to pierwsze w świecie badania obejmujące tak szeroki zakres prac porównawczych dwu podstawowych żywicieli dla PVY. Na ich podstawie można stwierdzić, że zdecydowana większość izolatów pochodzących z ziemniaka jest zdolna porażać tytoń, jak też większość izolatów tytoniowych zdolna jest do infekowania ziemniaka.

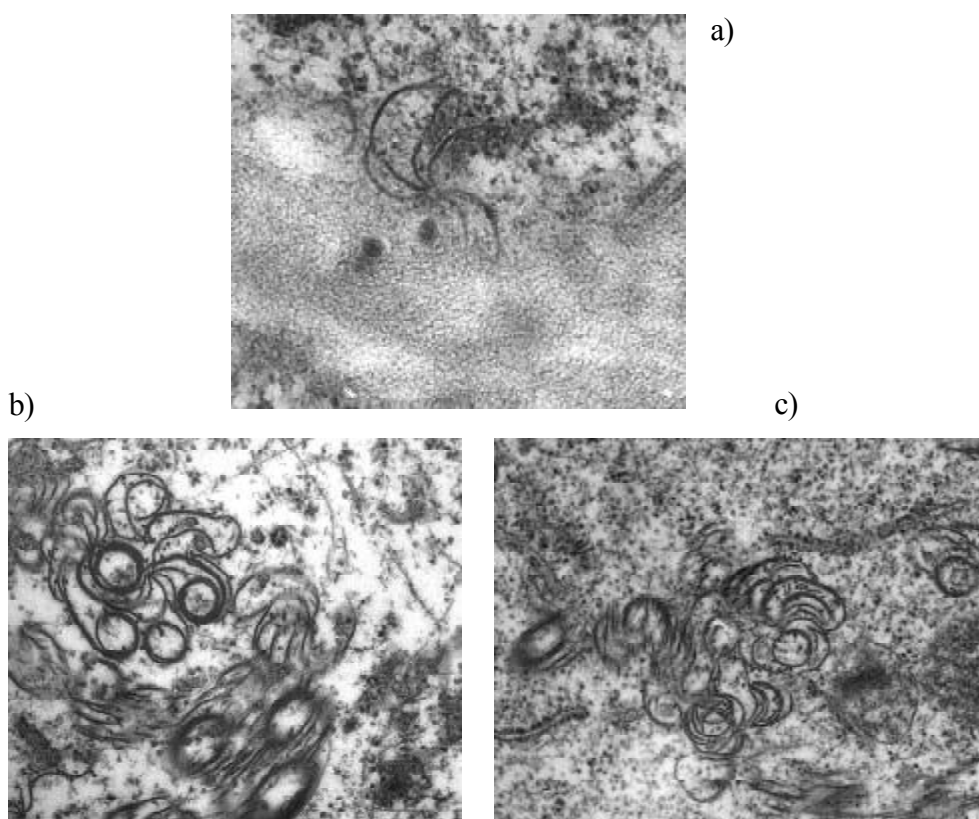
Jednym z podstawowych kryteriów klasyfikacji izolatów PVY są ich właściwości biologiczne, czyli zdolność do porażania gatunków bądź odmian i wywoływania określonych objawów chorobowych. Innym kryterium są właściwości serologiczne określone przy użyciu odpowiednich przeciwciał. Przeciwciała monoklonalne firmy Bioreba (nr 112722) są swoiste względem szczepów PVY<sup>N</sup>. Izolaty, które nie są wykrywalne tymi przeciwciałami zaliczane są do szczepu PVY<sup>NW</sup>. Brak wykrywalności izolatów PVY<sup>NW</sup> przez przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko szczepom nekrotycznym, pomimo nekrotycznych objawów jakie wywołują na tytoniu, wynika z faktu, że powstały one na drodze rekombinacji między szczepami PVY<sup>N</sup> i PVY<sup>0</sup> i posiadają właściwości biologiczne charakterystyczne dla szczepu PVY<sup>N</sup>, a właściwości serologiczne charakterystyczne są dla szczepu PVY<sup>0</sup> (23). Grupę tę wyodrębniono jako oddzielną na 11 konferencji sekcji wirusologicznej EAPR w 2001 roku w Czechach (27).

Izolaty wykrywalne przez przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko typowym szczepom nekrotycznym (nr 112722) zaliczane są do szczepu PVY<sup>N</sup> lub PVY<sup>NTN</sup> (24). Cechą wyróżniającą izolaty należące do PVY<sup>NTN</sup> jest zdolność wywoływania objawów pierścieniowej nekrotycznej choroby bulw ziemniaka (PTNRD; Potato Tuber Necrotic Ringspot Disease) u podatnych odmian ziemniaka w optymalnych warunkach temperatury. Tę grupę izolatów wyodrębniono na konferencji sekcji wirusologicznej EAPR w Hiszpanii w 1992 r. i określono jako PVY<sup>NTN</sup> (ang. Necrotic, Tuber Necrosis).

W 1994 r. PVY<sup>NTN</sup> zidentyfikowano na tytoniu i ziemniaku w Polsce (13). Izolat tytoniowy określony wstępnie jako PVY<sup>NTN</sup>III wykazał zdolności wywoływania nekroz na bulwach ziemniaka, co potwierdziło jego przynależność do grupy PVY<sup>NTN</sup> (13).

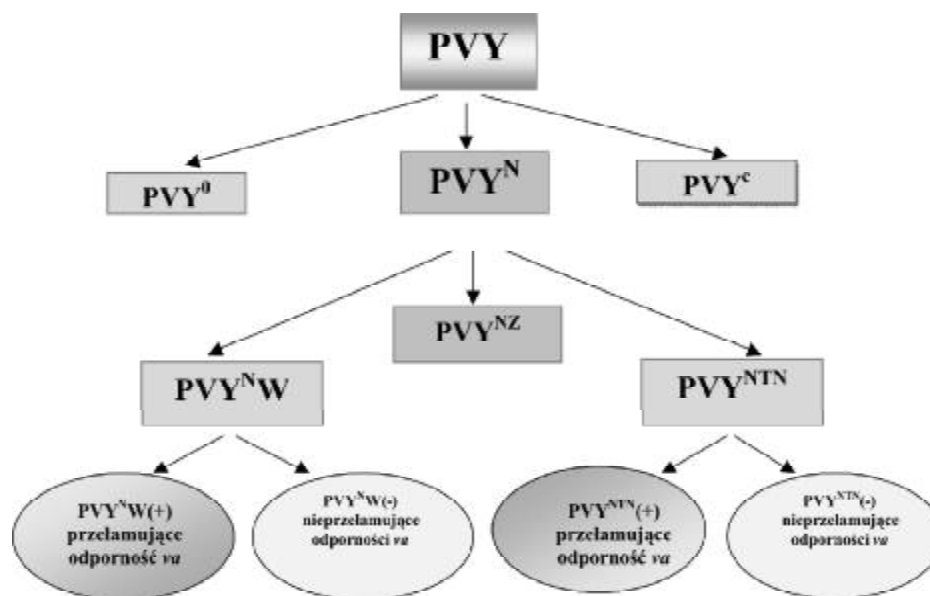
Nekrozę bulw powodowaną przez PVY<sup>NTN</sup> opisano na Węgrzech (3), w Niemczech (38), w Jugosławii (9), Francji (29), Portugalii (42), Japonii (36), Kanadzie i USA (33).

Charakterystyczną cechą PVY, podobnie jak całego rodzaju *Potyvirus*, jest zdolność do wytwarzania cytoplazmatycznych ciałek inkluzyjnych w komórkach zainfekowanych roślin (21). Zróżnicowany kształt ciałek inkluzyjnych rozpoznawanych przy użyciu mikroskopu elektronowego stanowi również jedno z kryteriów taksonomicznych (50). Badania prowadzone dla kilku izolatów tytoniowych o zróżnicowanych właściwościach pozwoliły zaobserwować rodzaje inkluzji białkowych, będących efektem obecności wirusa w zakażonej tkance (16). Izolat należący do grupy PVY<sup>NW</sup> powodował charakterystyczne inkluzje określane jako struktury „pinweel” (rys. 13a). Ciała inkluzyjne w komórkach parenchymy, będące efektem infekcji PVY<sup>NZ</sup>, miały charakter zwojów (rys. 13b). Natomiast bardzo liczne inkluzje w postaci zwojów i ciał osmolitycznych wywołane były przez izolat z grupy PVY<sup>NTN</sup> (rys. 13c).



Rys. 13. Ciała inkluzywne w komórkach parenchymy liści tytoniu, będące efektem zakażenia 3 izolatami z grupy: a) PVY<sup>NW</sup> – struktury wiatraczkowate; b) PVY<sup>NZ</sup> – zwoje; PVY<sup>NTN</sup> – zwoje i ciała osmolityczne

Źródło: Doroszevska T., 1998 (16).



Rys. 14. Klasyfikacja szczepów i izolatów PVY występujących w uprawach tytoniu  
Źródło: Opracowanie własne.

Na podstawie charakterystyki uwzględniającej różne kryteria zaproponowano klasyfikację izolatów PVY ze szczególnym uwzględnieniem cech istotnych dla tytoniu (rys. 14). Najważniejsze znaczenie w uprawie tytoniu mają szczepy nekrotyczne (PVY<sup>N</sup>), wywołujące nekrozy nerwów i często blaszki liściowej; mniejsze znaczenie mają szczepy PVY<sup>0</sup> i PVY<sup>C</sup>. W obrębie PVY<sup>N</sup> wyróżniono trzy szczepy:

**PVY<sup>NZ</sup>** – wykrywalny przez przeciwciała monoklonalne (MoAbs anti Y<sup>N</sup>), nie infekuje ziemniaka, zdolny do przełamania niektórych źródeł odporności tytoniu;

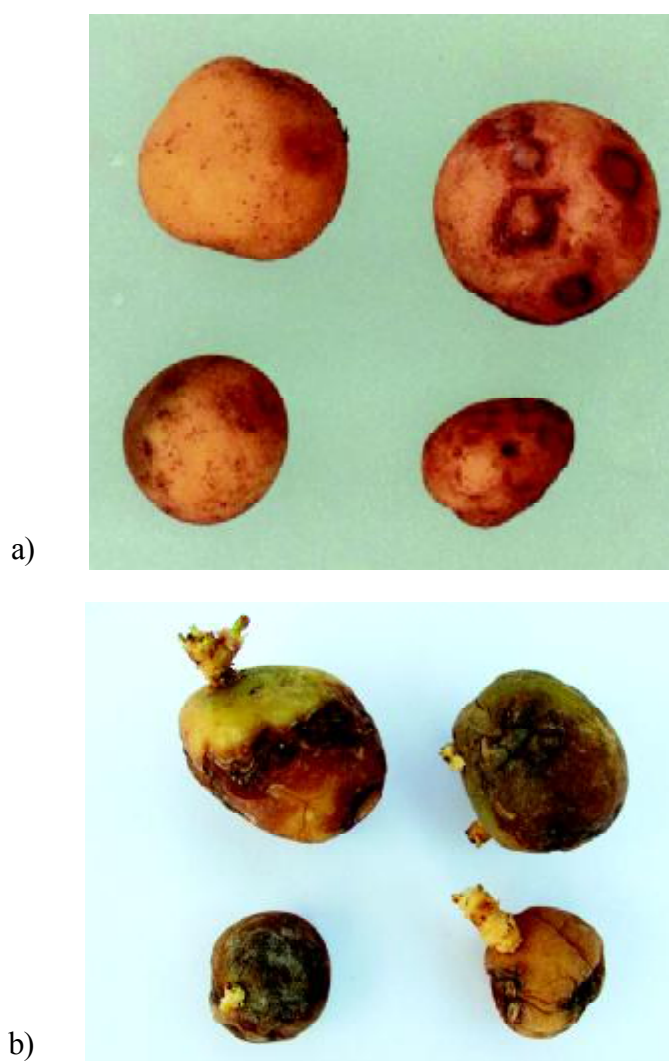
**PVY<sup>NW</sup>** – izolaty zaliczone do tej grupy nie są wykrywalne przez przeciwciała monoklonalne (MoAbs anti Y<sup>N</sup>) i nie wykazują zdolności wywoływania nekroz na bulwach ziemniaka. W tej grupie znajdują się:

- PVY<sup>NW(va+)</sup> – izolaty przełamujące odporność warunkowaną recesywnym genem określanym jako *va*, obecnym w większości odmian uprawianych w Polsce i w Europie;
- PVY<sup>NW(va-)</sup> – izolaty nieprzełamujące odporności warunkowanej genem *va*;

**PVY<sup>NTN</sup>** – izolaty wykrywalne przez przeciwciała monoklonalne (MoAbs anti Y<sup>N</sup>), zdolne do wywoływania nekroz na bulwach ziemniaka. Wśród nich stwierdzono:

- PVY<sup>NTN(va+)</sup> – izolaty przełamujące odporność tytoniu warunkowaną genem *va*;
- PVY<sup>NTN(va-)</sup> – izolaty nieprzełamujące odporności warunkowanej genem *va*.

W uprawach tytoniu w Polsce przeważają izolaty PVY<sup>NW</sup>, stanowiąc około 75-85% całej populacji wirusa. Spośród 47 izolatów pozyskanych w latach 1999–2002 z odmian i linii hodowlanych tytoniu, niosących różne źródła odporności, 36 izolatów było wykrywalnych tylko przez przeciwciała MoAbs anti Y, co świadczyło o ich przynależności do PVY<sup>NW</sup>, zaś 11 izolatów zostało wykrytych przez dwa rodzaje przeciwciał, wskazując na ich przynależność do PVY<sup>NTN</sup> (tab. 1). Również zdecydowana większość izolatów (84,7%) pozyskanych w latach 2005–2007, głównie z podatnych



Rys. 15. Nekrozy na bulwach ziemniaka wywołane przez izolat: a) PVY<sup>NTN</sup> (Pu) zebrany z tytoniu uprawianego w Puławach; b) PVY<sup>NTN</sup> (Ha) zebrany na Węgrzech  
Źródło: Doroszevska T., 2004 (17).

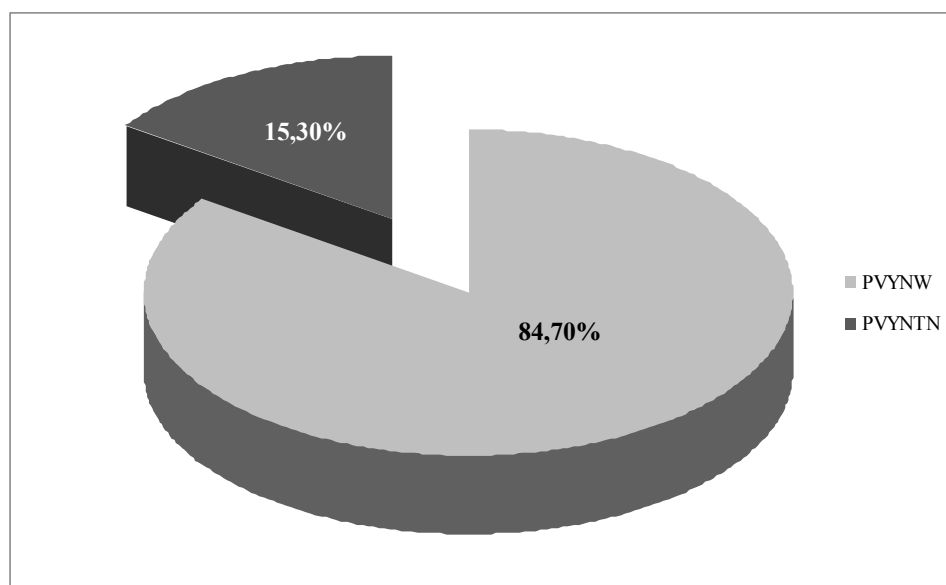
odmian tytoniu, wykazywała charakter PVY<sup>NW</sup> (rys. 16). Podobną sytuację stwierdzono w uprawach ziemniaka w Polsce, gdzie stosunek szczepu PVY<sup>NW</sup> do PVY<sup>NTN</sup> wynosi 80 : 20% (24). W uprawach tytoniu w Niemczech i w Szwajcarii obserwuje się częściej występowanie szczepu PVY<sup>NTN</sup>; udział tych izolatów wynosił odpowiednio 56 i 58% ogółu badanych (rys. 17 i 18).

Uwzględniając zdolność do porażania odmian tytoniu należy stwierdzić, że większość izolatów z grupy PVY<sup>NW</sup> stanowią PVY<sup>NW(va-)</sup>, nieprzełamujące odporności typu *va*. Ostatnie badania wykazały jednak, że niektóre izolaty z grupy PVY<sup>NW</sup> są również zdolne do wywoływania nekroz na odmianach uznawanych wcześniej za odporne – VAM, TN 86, Wiślica i in. (dane własne niepublikowane).

Izolaty należące do grupy PVY<sup>NTN</sup> są wykrywalne przez przeciwciała monoklonalne (MoAbs anti Y<sup>N</sup>), jak też zdolne są do wywoływania nekroz na bulwach ziemniaka (rys. 15).

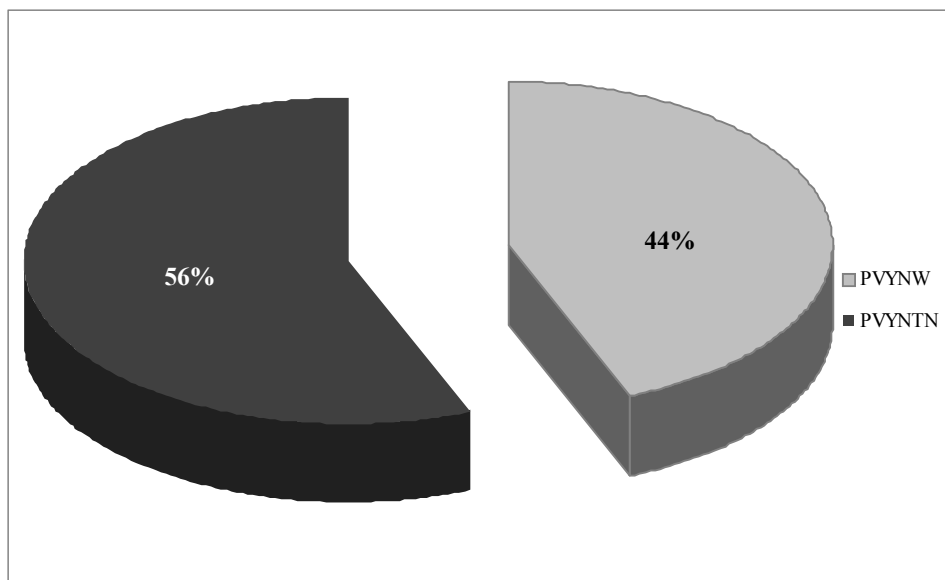
W odróżnieniu od grupy PVY<sup>NW</sup> większość izolatów z grupy NTN wykazuje zdolności przełamania odporności istniejącej w obrębie tytoniu uprawnego, co lokalizuje je w obrębie PVY<sup>NTN(va+)</sup>.

Zaproponowana klasyfikacja szczepów i izolatów PVY opiera się na podstawowych i łatwych do weryfikacji kryteriach. Może być użyteczna dla grupowania nowo pojawiających się izolatów, jak też może uwzględniać rozszerzone kryteria identyfikacji. Prowadzone obecnie badania molekularne nad pokrewieństwem różnych izolatów tytoniowych (dane własne niepublikowane) dostarczają nowych informacji, które zo-



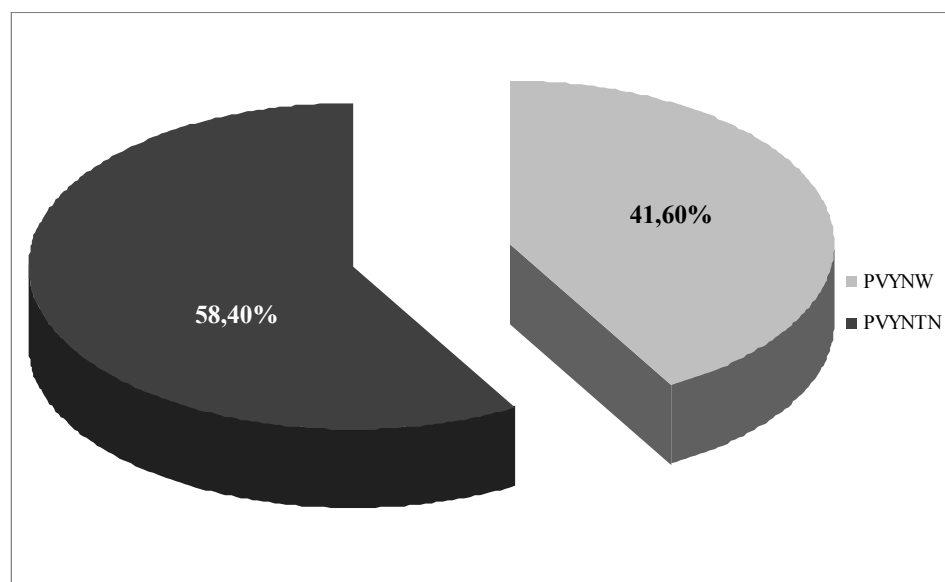
Rys. 16. Udział izolatów PVY należących do poszczególnych grup, pochodzących z tytoniu uprawianego w Polsce

Źródło: Opracowanie własne.



Rys. 17. Udział izolatów PVY należących do poszczególnych grup, pochodzących z tytoniu uprawianego w Niemczech

Źródło: Opracowanie własne na podstawie badań w programie CORESTA „Sub-Group Collaborative Study on PVY” koordynowanych przez autorkę.



Rys. 18. Udział izolatów PVY należących do poszczególnych grup, pochodzących z tytoniu uprawianego w Szwajcarii

Źródło: Opracowanie własne na podstawie badań w programie CORESTA „Sub-Group Collaborative Study on PVY” koordynowanych przez autorkę.

staną wykorzystane w proponowanym schemacie klasyfikacji i będą pomocne przy badaniach odpornościowych.

### Podsumowanie

Brunatna nekroza nerwów tytoniu powodowana przez nekrotyczne szczepy wirusa Y ziemniaka (PVY) jest chorobą trudną do zwalczenia i ekonomicznie ważną. Pojawianie się nowych izolatów, zdolnych do infekcji istniejących źródeł odporności w obrębie tytoniu uprawnego, stwarza nowe zagrożenia dla uprawy tej rośliny. Wysoka częstotliwość rekombinacji, jak też mutacje w genomach wirusowych sprawiają, że patogeny te przełamują mechanizmy obronne i szybko dostosowują się do nowych gospodarzy, którymi są odporne odmiany tytoniu. Badania ostatnich lat szeroko prowadzone w kraju i za granicą wskazują, że poziom występowania PVY podlega dużym wahaniom w poszczególnych latach, lecz następuje wzrost udziału izolatów przełamujących odporność tytoniu. Stwierdzono dużą różnorodność w obrębie populacji PVY<sup>N</sup> pod względem właściwości biologicznych i serologicznych izolatów. Na podstawie tych właściwości zaproponowano system klasyfikacji ułatwiający charakteryzowanie i grupowanie izolatów. W uprawach tytoniu w Polsce przeważają izolaty należące do grupy PVY<sup>NW</sup> (ok. 80%) w stosunku do grupy PVY<sup>NTN</sup> (ok. 20%). W obydwu grupach występują izolaty przełamujące główne źródła odporności. Prowadzone badania molekularne dostarczają nowych informacji i zapewne pozwolą na uzupełnienie charakterystyki PVY przydatnej w hodowli odpornościowej.

### Literatura

1. Aranda M.A., Fraile A., Dopazo Malpica J.M., Garcia-Arenal F.: Contribution of mutation and RNA recombination to the evolution of a plant pathogenic RNA. *J. Mol. Evol.*, 1997, **44**: 81-88.
2. Aubert O.: Observations sur le virus de la necrose des nervuras du tabac. Deuxieme Congres Scientifique International du Tabac, Bruksela, 1958, 83-85.
3. Beczner L., Horvath J., Romhanyi I., Forster H.: Studies on etiology of tuber necrotic ring spot disease in potato. *Potato Res.*, 1984, **27**: 339-352.
4. Berbec J.: Wirusowa nekroza (brunatnienie) nerwów liści tytoniu. *Wiad. Tyton.*, 1960, **1(31)**: 237-240.
5. Berger P.: Die Symptomausprägung einiger Virosan auf Tabak unter Freiland und Gewächshausbedingungen. *Berichte des Instituts für Tabakforschung*. Drezno, 1958, **5(1)**.
6. Blancard D., Ano G., Cailleteau B.: Principaux virus affectant le tabac en France. *Ann. Tabac*, 1994, **26**: 39-51.
7. Blancard D., Ano G., Cailleteau B.: Etude du pouvoir pathogène d'isolates de PVY sur tabac: proposition d'une classification intégrant la résistance a la nécrose. *Ann. Tabac*, 1995, **27**: 43-50.
8. Bode O.: Recherches sur le virus de la maladie des cotes brunes du Tabac. Bruksela, 1958, 93-96.
9. Buturović D., Kus M.: The occurrence of potato tuber ring necrotic disease in Yugoslavia. *Virology Sect. Meet. EAPR*, Budrio, Bologna, 1989, 6.

10. Chachulska A.M., Chrzanowska M., Flis B., Krzymowska M., Lipska-Dwuznik A., Robaglia C., Zagorski W.: Potato and tobacco cultivars transformation towards potato virus Y resistance. *Biotechnologia*, 1997, **4(39)**: 48-54.
11. Chachulska A.M.: Potato virus Y phylogeny and engineered virus resistance. Ph.D. thesis. IBB PAN, Warszawa, 1998.
12. Chrzanowska M., Doroszevska T., Zagorska H.: Zróznicowanie izolatów wirusa Y ziemniaka w zależności od kryterium oceny. *Acta Agrobot.*, 2002, **55(1)**: 59-67.
13. Chrzanowska M., Doroszevska T.: Comparison between PVY isolates obtained from potato and tobacco plants in Poland. *Phytopathol. Pol.*, 1997, **13**: 63-71.
14. Chrzanowska M.: Differentiation of potato virus Y (PVY) isolates. *Phytopathol. Pol.*, 1994, **20(8)**: 15-20.
15. Dolja V.V., Haldeman R., Robertson N.L., Dougherty W.G., Carrington J. C.: Distinct functions of capsid protein in assembly and movement of tobacco etch potyvirus in plants. *EMBO J.*, 1994, **13**: 1482-1491.
16. Doroszevska T., Chrzanowska M., Garbaczewska G.: PVY isolates collected from tobacco characterized by serological biological and cytological methods. EAPR Virology Section Meeting. Schriftenreihe des BFL, 1999, **25**: 73-83.
17. Doroszevska T.: Krzyżowanie oddalone i transformacja genetyczna w uzyskiwaniu odporności tytoniu (*Nicotiana tabacum* L.) na wirusa Y ziemniaka (PVY). Monogr. Rozpr. Nauk., IUNG Puławy, 2004, **9**.
18. Doroszevska T.: Sub-Group Collaborative Study on Potato Virus Y. Annual Subgroup Report 2007, CORESTA CD-ROM Version N°26.
19. Dougherty W.G., Carrington J. C.: Expression and function of potyviral gene products. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 1988, **26**: 123-143.
20. Drake J. W.: Role of spontaneous mutation among RNA viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, **90**: 4171-4175.
21. Edwardson J. R., Christie R. G., Ko N. J.: Potyvirus cylindrical inclusions – subdivision IV. *Phytopathology*, 1984, **74**: 1111-1114.
22. Gajos Z.: Silnie wirulentny szczep wirusa Y na tytoniu w Polsce, jego występowanie i właściwości w porównaniu ze szczepami nekrotycznym i zwykłym. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 1971, **115**: 87-98.
23. Glais L., Tribodet M., Kerlan C.: Genomic variability in Potato potyvirus Y (PVY): evidence that PVY<sup>NW</sup> and PVY<sup>NTN</sup> variants are single to multiple recombinants between PVY<sup>0</sup> and PVY<sup>N</sup> isolates. *Arch. Virol.*, 2002, **147**: 363-378.
24. Golnik K., Syller J., Chrzanowska M., Sztangret-Wisniewska J.: Metody identyfikacji szczepów wirusa Y ziemniaka. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Rośl.*, 2007, **47(2)**: 94-96.
25. Gooding G. V. Jr., Lapp N. A.: Distribution, incidence and strains of potato virus Y in North Carolina. *Tob. Sci.*, 1980, **24**: 89-92.
26. Gooding G. V. Jr.: Relationship between strain of potato virus Y and breeding for resistance cross protection, and interference. *Tob. Sci.*, 1985, **29**: 99-104.
27. Kerlan C., Chrzanowska M., Gais L., Fremondiere G., Tribodet M.: Biological and molecular characterization of various PVY<sup>NW</sup> isolates. 11<sup>th</sup> EAPR Virol. Sec. Meet., Trest, Czech Republic, 2001, 1-3.
28. Klinkowski M., Schmelzer K.: A necrotic type of potato virus Y. *Amer. Potato J.*, 1960, **37**: 221-229.
29. LeRomancer M., Kerlan C.: La maladie des necroses annulaires superficielles des tubercules: une affection de la pomme de terre due au virus Y. *Agronomie*, 1991, **11**: 889-900.
30. Lucas G. B.: Diseases of tobacco. Biological Consulting Associates. Raleigh, North Carolina, 1975.
31. Marte M., Belleza G.: Potatoes and tobacco stalks as sources of Potato virus Y in central Italy. *Phytopath. Medit.*, 1988, **27**: 169-172.



32. McDonald J. G., Kristjansson G.T.: Properties of strains of potato virus Y<sup>N</sup> in North America. *Plant Dis.*, 1993, **77**: 87-89.
33. McDonald J. G., Singh R. P.: Response of potato cultivars to North American Isolates of PVY<sup>NTN</sup>. *Amer. Potato J.*, 1996, **73**: 317-323.
34. Nagy G.: Breeding tobacco in Hungary for resistance to PVY. PVY Conference 13-14 September. ULTP, Hungary, 1999.
35. Nobrega N. R., Silberschmidt K.: On a suspected variant of the potato virus Y (*Solanum virus 2*, Orton), which causes necrosis on tobacco plants. *Arg. Inst. Biol. S. Paulo.*, 1944, **15**: 307-330.
36. Ohshima K., Sako K., Hiraishi C., Nakagawa A., Matsuo K., Ogawa T., Shikata E., Sako N.: Potato tuber necrotic ringspot disease occurring in Japan: Its association with *Potato virus Y* necrotic strain. *Plant Disease*, 2000, 1109-1115.
37. Powell Abel P., Nelson R. S., Barun D., Hoffmann N., Rogers S. G., Fraley R. T., Beachy R. N.: Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science*, 1986, **232**: 738-743.
38. Radtke W.: Schwellungen an Kartoffelknollen beobachtet Ursache unbekannt. *Kartoffelbau*, 1984, **35(1)**: 24-25.
39. Ramirez B. C., Barbier P., Seron K., Haenni A. L., Bernardi F.: Molecular mechanisms of point mutations in RNA viruses. In: Gibbs A. J., Calisher C. H., Garcia-Arenal F.: *Molecular basis of evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, 1994, 105-118.
40. Revers F., Le Gall O., Candresse T., Dunez J.: Evidence for the frequent occurrence of recombinant potato virus Y isolates. *Ann. Tabac*, 1995, **27**: 65-71.
41. Robaglia C., Durand-Tardif M., Tronchet M., Boudazin G., Astier-Manifacier S., Casse-Delbart F.: Nucleotide sequence of Potato Virus Y (N strain) demonic RNA. *J. Gen. Virol.*, 1989, **70**: 935-947.
42. Serra M. C.: First report of potato tuber necrotic ringspot disease caused by PVY<sup>NTN</sup> in Portugal. *Plant Disease*, 1997, **81(6)**: 694.
43. Shukla D. D., Ward C. W., Brunt A. A.: *The Potyviridae*. CAB International. Wallingford, Oxfordshire, UK, 1994.
44. Smith K. M.: On the composite nature of certain Potato virus disease of the mosaic group as revealed by the use of plants indicators. *Proc. Roy. Soc. London*, 1931, B **109**: 251-266.
45. Verrier J. L., Marchand V., Cailleteau B., Delon R.: Chemical change and cigarette smoke mutagenity increase associated with CMV-DTL and PVY-N infection in burley Tobacco. *Inf. Bull. CORESTA*, Cape Town, 2001, 1.
46. Verrier J. L., Doroszevska T.: The PVY collaborative experiment 1966–2002: a global synthesis of results. CORESTA CD-ROM Version N 20.
47. Voelk J.: Transmission de la souche du virus Y responsable de la maladie des cotes brunes. *Deuxieme Congres Scientifigque International du Tabac*, Bruksela, 1958, 150-155.
48. Vorster L. L., Kotze J. M.: Strains of potato virus Y affecting tobacco in South Africa. *Phytophylactica*, 1986, **18(1)**: 48.
49. Vorster L. L.: The differentiation and distribution of potato virus Y strains isolated from tobacco in South Africa. *Masters Abstr. Int.*, 1987, **25(3)**: 268.
50. Ward C. W., Shukla D. D.: Taxonomy of potyviruses: current problems and some solutions. *Intervirology*, 1991, **32**: 269-296.
51. Ward C. W., Weiller G. F., Shukla D. D., Gibbs A.: Molecular systematic of the *Potyviridae*, the largest plant virus family. In: Gibbs A. J., Calisher C. H., Garcia-Arenal F.: *Molecular basis of evolution*. Cambridge University Press, 1994, 477-500.
52. Wen C., Wu Y., Li H., Wang H., Liu Q.: Influences on photosynthesis and respiration of tobacco infected by potato Virus Y – vein necrosis strain. *Bull. Inf. CORESTA*. Suzhou, China, 1999, 10-11.
53. Yamamoto Y., Sato M.: Evaluation and genetic analysis of potato virus Y resistance of domestic Japanese tobacco. *SABRAO J.*, 1982, **14**: 47-51.

## Adres do korespondencji:

*doc. dr hab. Teresa Doroszevska*  
*Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin*  
*IUNG-PIB*  
*ul. Czartoryskich 8*  
*24-100 Puławy*  
*tel.: 081 886 34 21 w. 216*  
*e-mail: [dorter@iung.pulawy.pl](mailto:dorter@iung.pulawy.pl)*

**Teresa Doroszevska, Anna Czubscka**

*Institut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Institut Badawczy  
w Puławach*

## OCENA ODPORNOŚCI ODMIAN I LINII HODOWLANYCH TYTONIU NA WIRUSA Y ZIEMNIAKA (PVY)\*

### Wstęp

Główne kierunki prac hodowlanych nad tytoniem wyznaczane są zapotrzebowaniem przemysłu na surowiec o dobrych cechach jakościowych oraz wymaganiami producentów surowca dotyczącymi stabilnego plonowania, nierozzerwalnie połączonego ze zdrowotnością uprawianych roślin, decydującą o opłacalności uprawy. Straty wynikające z obniżki plonów i złej jakości surowca powodowanej przez choroby sprawiają, że hodowla odpornościowa zajmuje istotne miejsce w badaniach. Ważnym problemem w uprawie tytoniu są choroby wirusowe, co wynika z bardzo ograniczonych możliwości ich zwalczania, polegających głównie na eliminacji wektorów (najczęściej owadów) będących nosicielami wielu wirusów. W przypadku wirusa Y ziemniaka *Potato virus Y* (PVY), a zwłaszcza jego nekrotycznych szczepów powodujących brunatną nekrozę nerwów liści tytoniu metoda zwalczania wektorów, którymi są mszyce, jest również mało skuteczna. Wynika to ze sposobu przenoszenia wirusa, określanego mianem „nietrwalego” (23). Najbardziej odpowiednią metodą ograniczającą rozwój choroby jest wprowadzanie do uprawy odmian odpornych. Hodowla odmian odpornych jest jednak ograniczona wąskim zakresem źródeł odporności, z których większość nie jest efektywna w zetknięciu z nowymi izolatami PVY występującymi zarówno w Polsce, jak też w wielu krajach świata (10, 11). Poszukiwanie odporności jest nieustannym wyścigiem zdarzeń genetycznych w genomach gospodarza i patogena, przy czym zdolność adaptacyjna patogena jest znacznie większa niż możliwości obronne gospodarza, co wynika z dużej częstotliwości mutacji i rekombinacji w genomie wirusa, powodujących skuteczne przełamywanie mechanizmów obronnych rośliny. Stwarza to określone warunki rozwoju choroby i potrzebę systematycznego przeciwstawiania wzrastającym zagrożeniom. W wyniku wieloletnich prac hodowlanych w Polsce i na świecie uzyskano odmiany i materiały wyjściowe nosące różne źródła odporności na PVY.

---

\* Opracowanie wykonano w ramach zadania 2.7 w programie wieloletnim IUNG - PIB

Celem badań było porównanie efektywności odporności odmian i linii hodowlanych tytoniu na różne izolaty PVY.

### Material i metody

W badaniach przeprowadzonych w latach 2003–2007 uwzględniono odmiany oraz linie hodowlane i transgeniczne niosące różne czynniki odporności na PVY.

#### Odmiany:

- Virgin A Mutant (VAM) – odmiana niemiecka należąca do typu papierosowego jasnego – niosąca gen *va*, uzyskana w wyniku działania promieniami X (17); odporna na większość izolatów PVY, zwłaszcza z grupy PVY<sup>NW</sup> (4, 11, 22);
- Wiślica – polska odmiana należąca do typu papierosowego jasnego, uzyskana w wyniku hodowli klasycznej; odporna na większość izolatów PVY, zwłaszcza z grupy PVY<sup>NW</sup> (4, 9);
- PBD 6 – odmiana należąca do typu papierosowego ciemnego, uzyskana w Bergerac (Francja) w wyniku selekcji z krzyżówki odmian paragwajskiej i Bel 61-10 (22); odporna na większość izolatów PVY;
- V. SCR – odmiana niemiecka należąca do typu papierosowego jasnego; odporność na PVY uzyskana metodą selekcji masowej (2);
- TN 86 – odmiana amerykańska należąca do typu Burley, odporność na PVY pochodząca od odmiany VAM;
- Samsun H – odmiana podatna na wszystkie nekrotyczne izolaty PVY

**Linie hodowlane** niosące odporność od dzikiego gatunku *Nicotiana africana*:

- BPA – stabilna linia hodowlana uzyskana w wyniku hodowli z mieszańca międzygatunkowego *N. tabacum* BP-210 z *N. africana* (10);
- WABPA2, WABPA3 – linie hodowlane uzyskane w wyniku selekcji z krzyżówki wielokrotnej z udziałem linii BPA;
- *Nicotiana africana* – dziki gatunek charakteryzujący się wysoką odpornością na PVY (9, 20).

**Linie transgeniczne:** Mac Nair 944 LMV CP, K 326 LMV CP, BY 103 LMV CP, MN 944 ROKY1, K 326 ROKY1, BY 103 ROKY1, AC Gayed ROKY1, K 326 ROKY2, BY 103 ROKY2, AC Gayed ROKY2 (6, 8). Linie transgeniczne zawierają następujące konstrukcje:

- LMV CP niosącą gen białka płaszczka wirusa mozaiki sałaty; plazmid pKY-LXLMVCP otrzymano od dr S. Dinant (INRA, Francja) w postaci bakterii *Agrobacterium tumefaciens* LBA 4404 transformowanych tą konstrukcją (7);
- pROKY niosącą zmodyfikowany gen polimerazy RNA wirusa PVY w orientacji sensownej (ROKY1) i w orientacji antysensownej (ROKY2), została przygotowana w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie (3).

## Ocena odporności

Badania odporności pięciu odmian (VAM, Wiślica, PBD6, TN 86, V. SCR) prowadzono w latach 2003–2007, w warunkach polowych w ramach działalności międzynarodowej organizacji CORESTA (Cooperation Centre for Scientific Research Relative to Tobacco) w programie „The Sub-Group Collaborative Study on Potato virus Y”. Ocenę odporności na występujące na danym terenie izolaty prowadzono w doświadczeniach polowych metodą bloków kompletnie zrandomizowanych, w czterech powtórzeniach, po około 40 roślin w jednym powtórzeniu. Obserwacje objawów chorobowych prowadzono systematycznie. Doświadczenia zlokalizowane były na Węgrzech, w Kolumbii, Szwajcarii, Polsce, Niemczech, Francji, Macedonii, we Włoszech, w Zimbabwie, Chinach, Iranie, Chorwacji i w Korei Płd.

Testy biologiczne prowadzono w warunkach szklarniowych metodą inokulacji. W badaniach uwzględniono izolaty PVY należące do grup PVY<sup>NW</sup> i PVY<sup>NTN</sup>, pozyskane z tytoniu w Polsce. Inokulacje roślin poszczególnych odmian i linii hodowlanych wykonywano w szklarni i w fitotronie. Celem eliminacji dodatkowej infekcji wirusem mozaiki tytoniowej (TMV), zwłaszcza izolatów pochodzących z pola, do namnożenia inokulum stosowano odmianę Samsun H odporną na TMV i bardzo podatną na wszystkie szczepy PVY. Po wystąpieniu typowych objawów chorobowych PVY pobierano liście wierzchołkowe, ucierano w morderzu i wyciskano sok, którym zakażano posypane karborundem rośliny przeznaczone do testowania. Inokulacje prowadzono w stadium 5–6 liści każdym z badanych w danym doświadczeniu izolatem. W ciągu 48 h zakażone rośliny chroniono przed bezpośrednim wpływem światła. Obserwacje prowadzono trzykrotnie – po 7, 10 i 15 dniach. Po czterech tygodniach od inokulacji wykonywano testy DAS-ELISA (Double-Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay; 5), używając przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko różnym szczepom wirusa Y (MoAbs anti Y) – IgG112911, określanych dalej jako ELISA 1, oraz skierowanych przeciwko szczepom nekrotycznym tego wirusa (MoAbs anti Y<sup>N</sup>) – IgG112712, określanych dalej jako ELISA 2. Przeciwciała są produkowane przez firmę BIOREBA (15). Badania odpornościowe linii transgenicznych poprzedzone były badaniem obecności transgenów.

## Analiza molekularna roślin transgenicznych

Z liści roślin transgenicznych pobierano 200–250 mg blaszki liściowej i rozcierano w morderzu do uzyskania jednolitej masy. Dodawano 1 ml podgrzanego do 60°C buforu do ekstrakcji (100 mM Tris-HCl, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, 2% CTAB, 0,2% β-merkaptotanol). Po zlaniu do próbki mieszaninę worteksowano przez 5–10 sekund, a następnie inkubowano 30 min. w temp. 60°C. Po schłodzeniu do temperatury pokojowej dodawano 1 objętość mieszaniny chloroform i alkohol izoamylowy w stosunku 24 : 1. Ekstrahowano mieszając przez 5 min., a następnie wirowano 15 min. przy 14 krpm i temperaturze 4°C. Do zebranej fazy wodnej dodawano 1V schłodzonego izopropanolu i wstawiano do zamrażarki na 15 min. dla lepszego wytrącenia

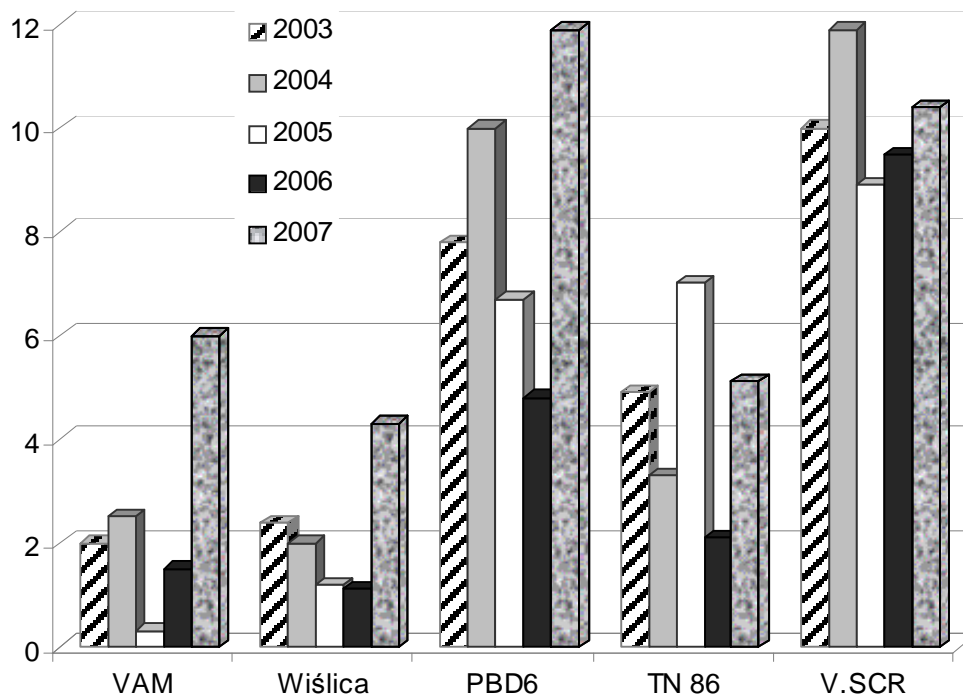
DNA. Wytrącone DNA wyławiano i przenoszono do buforu płuczącego (76% etanol, 10 mM octan amonu). Po zwirowaniu osad przepłukiwano 2-krotnie 70% zimnym etanolem, suszono próżniowo, zawieszano w 20 ml sterylnej wody i przechowywano w temp.  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Potwierdzenie obecności transgenu roślin prowadzono stosując reakcję łańcuchową polimerazy – PCR (ang. Polymerase Chain Reaction). Mieszanina reakcyjna do PCR w przeliczeniu na jedną próbkę o objętości 50  $\mu\text{l}$  zawierała: przy detekcji genu LMV CP: 0,5 x PCR bufor, 2 ml 25 mM  $\text{MgCl}_2$ , 1 ml 10 mM dNTPs, po 25 ng specyficznych starterów, 0,75 jednostki polimerazy firmy Fermentas, 1 ml matrycy DNA; przy detekcji genu ROKY1 lub ROKY2: 0,5 x PCR bufor, 4,5 ml 25 mM  $\text{MgCl}_2$ , 3,6 ml 10 mM dNTPs, po 180 ng specyficznych starterów, 0,9 jednostki polimerazy firmy Fermentas, 1 ml matrycy DNA. Amplifikację prowadzono przy następujących parametrach:  $94^{\circ}\text{C}$  – 4 min; 30 cykli:  $95^{\circ}\text{C}$  – 30 s,  $58^{\circ}\text{C}$  – 30 s,  $72^{\circ}\text{C}$  – 45 s;  $72^{\circ}\text{C}$  – 10 min. Produkty amplifikacji rozdzielano elektroforetycznie w 2% żelu agarozowym z dodatkiem 0,2 mg/ml bromku etydy, w buforze 1 x TBE (100 mM Tris, 90 mM  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 1 mM EDTA, pH 8,5) przy napięciu 7-10 V/cm. Wizualizację wyników elektroforezy prowadzono w świetle UV transiluminatora.

### Wyniki i dyskusja

Ocenę odporności pięciu odmian tytoniu (VAM, Wiślica, PBD 6, TN 86, V.SCR) prowadzono w doświadczeniach polowych, w 13 krajach (Niemcy, Szwajcaria, Polska, Węgry, Francja, Macedonia, Włochy, Chorwacja, Chiny, Kolumbia, Iran, Zimbabwe i Korea Płd.) na znacznych arealach charakteryzujących się występowaniem PVY. Żadna z badanych odmian nie wykazała całkowitej odporności na występujące szczepy tego wirusa (rys. 1). Udział roślin porażonych wśród badanych odmian był zróżnicowany w poszczególnych latach, co na ogół odpowiadało nasileniu występowania wirusa. Największą odpornością charakteryzowały się niemiecka odmiana VAM i polska odmiana Wiślica. Stosunkowo dobrze w ocenie polowej wypadła odmiana TN 86, zawierająca taki sam typ odporności, jak odmiana VAM. Zdecydowanie większym udziałem roślin wykazujących nekrozy nerwów cechowały się odmiany PBD 6 i V.SCR.

W badaniach własnych odporności w warunkach szklarniowych uwzględniono odmiany VAM, Wiślica, PBD 6, dziki gatunek *N. africana* i podatną odmianę Samsun H. Do inokulacji użyto 17 izolatów należących do grupy PVY<sup>NW</sup> oraz 12 izolatów należących do PVY<sup>NTN</sup>. Wszystkie izolaty wykorzystane w tych badaniach pochodziły z Polski, z odmian i linii hodowlanych tytoniu. Izolat PVY<sup>NW</sup> 1 pochodził z odmiany podatnej, pozostałe genotypy wykazywały określony stopień odporności na PVY. Odmiana VAM nie wykazywała objawów chorobowych po inokulacji izolatami PVY<sup>NW</sup> 1, PVY<sup>NW</sup> 12, PVY<sup>NW</sup> 13, PVY<sup>NW</sup> 14 i PVY<sup>NW</sup> 16. Małe wartości absorbancji w teście ELISA potwierdziły odporność tej odmiany na wymienione izolaty. Przejaśnienia nerwów i obecność wirusa w soku dwóch z czterech zakażanych roślin były efektem porażenia izolatem PVY<sup>NW</sup> 15. Po inokulacji pozostałymi 11 izolatami



Rys. 1. Ocena odporności odmian tytoniu na PVY w naturalnych warunkach polowych

Źródło: Opracowanie własne na podstawie badań w programie CORESTA Sub-Group Collaborative Study on PVY koordynowanego przez autorke.

z grupy PVY<sup>NW</sup> odmiana VAM uległa porażeniu, wykazując nekrozy nerwów i dużą koncentrację wirusa w soku zakażanych roślin (tab. 1).

Odmiana Wiślica nie uległa porażeniu jedynie po zastosowaniu izolatu PVY<sup>NW</sup> 1, pochodzącego z odmian podatnych oraz wykazała plamy chlorotyczne po zakażeniu izolatami PVY<sup>NW</sup> 13. Na pozostałe izolaty odmiana Wiślica reagowała nekrozą nerwów. Jeszcze niższym stopniem odporności charakteryzowała się odmiana PBD 6, która nie uległa porażeniu tylko po inokulacji izolatami PVY<sup>NW</sup> 1. Największą odpornością charakteryzował się gatunek *N. africana*, który nie wykazywał żadnych objawów chorobowych ani obecności wirusa w soku inokulowanych roślin. Odmiana kontrolna Samsun H uległa porażeniu wykazując silne objawy nekrotyczne i wysokie wartości absorbancji. Obecność wirusa w soku zakażonych roślin izolatami z grupy PVY<sup>NW</sup> była wykrywalna tylko przy użyciu przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko wszystkim szczepom PVY; nie wykrywały tych izolatów przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko szczepom nekrotycznym, pomimo nekrotycznego charakteru wywoływanych przez te izolaty objawów (tab. 1). Powodem takiej reakcji jest fakt, iż izolaty należące do PVY<sup>NW</sup> powstały na drodze rekombinacji ze szczepu zwykłego (O) i nekrotycznego (N); (16). Białko płaszczka (CP) pochodzi od szczepu zwykłego (nie nekrotycznego) natomiast informacja genetyczna zawarta w kwasach nukleinowych od szczepu nekrotycznego (12, 13).

Tabela 1

Porównanie odporności odmian tytoniu (Samsun H, VAM, Wislica, PBD6) i gatunku *N. africana* na izolaty PVY<sup>NW</sup>

Izolaty PVY	Liczba roślin inokulowanych/porażonych															
	Samsun			VAM			Wislica			PBD6			<i>N. africana</i>			
	ELISA**		objawy*	ELISA**		objawy*	ELISA**		objawy*	ELISA**		objawy*	ELISA**		objawy*	
	1	2		1	2		1	2		1	2					
PVY <sup>NW</sup> 1	VN	3/3	3/0	bo	5/0	5/0	5/0	5/0	bo	5/0	5/0	5/0	5/0	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NW</sup> 2	VN	3/3	3/0	VN	5/5	5/0	5/0	5/0	VN	5/5	5/0	5/0	5/0	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NW</sup> 3	VN	3/3	3/0	VN	5/5	5/0	5/0	5/0	VN	5/5	5/0	5/0	5/0	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NW</sup> 4	VN	3/3	3/0	VN	5/5	5/0	5/0	5/0	VN	5/5	5/0	5/0	5/0	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NW</sup> 5	VN	3/3	3/0	VN	5/5	5/0	5/0	5/0	VN	5/5	5/0	5/0	5/0	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NW</sup> 6	VN	3/3	3/0	VN	5/3	5/0	5/0	5/0	VN	5/5	5/0	5/0	5/0	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NW</sup> 7	VN	3/3	3/0	VN	3/3	3/0	3/0	3/0	VN	3/3	3/0	3/0	3/0	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NW</sup> 8	VN	3/3	3/0	VN	3/3	3/0	3/0	3/0	VN	3/3	3/0	3/0	3/0	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NW</sup> 9	VN	3/3	3/0	VN	3/3	3/0	3/0	3/2	VN	3/2	3/0	3/0	3/0	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NW</sup> 10	VN	3/3	3/0	VN	3/3	3/0	3/0	3/0	VN	3/3	3/0	3/0	3/0	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NW</sup> 11	VN	3/3	3/0	VN	3/3	3/0	3/0	3/0	VN	3/3	3/0	3/0	3/0	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NW</sup> 12	VN	3/3	3/0	bo	3/3	3/0	3/0	3/0	VN	3/3	3/0	3/0	3/0	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NW</sup> 13	VN	3/3	3/0	bo	3/0	3/0	3/0	3/1	CS	3/1	3/0	3/0	5/5	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NW</sup> 14	VN	3/3	3/0	bo	3/0	3/0	3/0	4/4	VN, CS	4/4	4/0	4/0	3/3	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NW</sup> 15	VN	3/3	3/0	VC	4/2	4/0	4/0	4/4	VN	4/4	4/0	4/0	4/4	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NW</sup> 16	VN	3/3	3/0	bo	4/0	4/0	4/0	4/4	VN	4/4	4/0	4/0	4/4	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NW</sup> 17	VN	3/3	3/0	VN	4/4	4/0	4/0	4/4	VN	4/4	4/0	4/0	4/4	bo	3/0	3/0

\* VN – nekroza nerwów, CS – plamy chlorotyczne, bo – bez objawów; PVY<sup>NW</sup> 1 – PVY<sup>NW</sup> 17 izolaty pochodzące z odmian i linii hodowlanych tytoniu

\*\* ELISA 1 – przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko różnym szczepom PVY (MoAbs anti Y)

\*\* ELISA 2 – przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko nekrotycznym szczepom PVY (MoAbs anti Y<sup>N</sup>)

Źródło: Wyniki badań własnych.



Drugą grupę izolatów użytych w tych badaniach stanowiły PVY<sup>NTN</sup>. Izolaty te wykrywalne są przez dwa rodzaje przeciwciał firmy Bioreba oraz wykazują zdolność wywoływania nekroz na bulwach ziemniaka (necrotic tuber necrosis); (14). Do inokulacji użyto 12 izolatów z tej grupy (tab. 2). Odmiana VAM nie uległa porażeniu tylko po inokulacji izolatami PVY<sup>NTN</sup> 28 i PVY<sup>NTN</sup> 30, zaś pozostałe izolaty wywoływały nekrozę nerwów i wysoką koncentrację wirusa w soku badanych roślin. Wiślica zareagowała przejaśnieniem nerwów na izolat PVY<sup>NTN</sup> 28, a na pozostałe nekrozą nerwów. Najmniej odporna na izolaty z grupy NTN okazała się odmiana PBD 6, ulegając porażeniu przez wszystkie badane izolaty. Podobnie jak przy użyciu izolatów PVY<sup>NW</sup> dziki gatunek *N. africana* nie uległ porażeniu żadnym z badanych izolatów.

Porównując użyte w badaniach odmiany tytoniu widać zróżnicowanie poszczególnych genotypów pod względem odporności na różne izolaty PVY. Spośród pięciu odmian uprawnych tytoniu wybranych w badaniach jako źródło odporności różniące się sposobem jej uzyskania, największą odpornością charakteryzowały się odmiany VAM i Wiślica. Wskazują na to wyniki z wieloletnich doświadczeń polowych prowadzonych w różnych krajach, o zróżnicowanej presji PVY, jak też wyniki inokulacji przy użyciu 29 izolatów. Odporność odmiany VAM warunkowana jest pojedynczym recesywnym genem określanym jako *va*, będącym delecją odcinka sekwencji odpowiedzialnego za podatność na PVY (21). To samo źródło odporności przeniesione do odmiany TN 86 jest nieco mniej skuteczne niż w odmianie wyjściowej. Odmiana V.SCR uzyskana w wyniku selekcji masowej (2) zawiera również gen określanym jako *va*, jednakże jest on mniej skuteczny w obronie przed silnymi izolatami (11, 22). B l a n c a r d i in. (1) wyróżnili trzy alleliczne formy genu *va* o różnym stopniu odporności: *va*<sup>0</sup>, *va*<sup>1</sup> i *va*<sup>2</sup>. Według autorów najbardziej efektywna forma *va*<sup>0</sup> obecna jest w genotypie VAM, a najsłabsza *va*<sup>2</sup> w genotypie V.SCR. Polska odmiana Wiślica wypada stosunkowo dobrze zarówno w polowych badaniach porównawczych, jak i podczas inokulacji. Dokładne pochodzenie tej odporności (obecnej również u wielu innych polskich odmian) nie jest udokumentowane, można natomiast wnosić, że jest to również typ odporności warunkowany delecją genu podatności. Pochodzenie odmiany PBD 6 określane jest jako wynik selekcji z krzyżówki odmian paragwajskiej i Bel 61-10 (22), natomiast odporność wykazana w badaniach polowych i inokulacjach była nieco mniejsza niż odmian VAM i Wiślicy. Badane odmiany wykazują wprawdzie zróżnicowany poziom odporności na PVY, jednakże żadna z nich nie jest efektywna w zetknięciu z nowymi izolatami należącymi do grupy PVY<sup>NTN</sup> i niektórymi z grupy PVY<sup>NW</sup>. Zatem ważnym aspektem jest ocena innych źródeł odporności.

Czynniki odporności na PVY pochodzące od gatunku *N. africana* zawierają linie BPA (9) oraz linie mieszańcowe WABPA 2 i WABPA 3 (dane własne niepublikowane). W badaniach odpornościowych porównano je z odmianą Wiślica i odmianą kontrolną Samsun H (tab. 3). Do inokulacji wybrano sześć izolatów spośród 29 zastosowanych w badaniach dotyczących oceny odporności odmian. Trzy z nich należą do grupy PVY<sup>NW</sup> i trzy do grupy PVY<sup>NTN</sup>. Izolaty te różnią się zdolnością infekcyjną w stosunku do poszczególnych odmian tytoniu (tab. 1 i 2).

Tabela 2  
Porównanie odporności odmian tytoniu (Samsun H, VAM, Wiślica, PBD6) i gatunku *N. africana* na izolaty PVY<sup>NTN</sup>

Izolaty PVY	Liczba roślin inokulowanych/zainfekowanych													
	Samsun H			VAM			Wiślica			PBD 6			<i>N. africana</i>	
	ELISA**		objawy*	ELISA**		objawy*	ELISA**		objawy*	ELISA**		objawy*	ELISA**	
	1	2		1	2		1	2		1	2		1	2
PVY <sup>NTN</sup> 20	VN	5/5	VN	5/5	VN	5/5	VN	5/5	VN	5/5	5/5	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NTN</sup> 21	VN	5/5	VN	5/5	VN	5/5	VN	5/5	VN	5/5	5/5	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NTN</sup> 22	VN	5/5	VN	5/5	VN	5/5	VN	5/5	VN	5/5	5/5	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NTN</sup> 23	VN	5/5	VN	5/5	VN	5/5	VN	5/5	VN	5/5	5/5	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NTN</sup> 24	VN	3/3	3/3	VN	3/3	3/3	VN	3/3	VN	3/3	3/3	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NTN</sup> 25	VN	3/3	3/3	VN	3/3	3/3	VN	3/3	VN	3/3	3/3	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NTN</sup> 26	VN	3/3	3/3	VN	3/2	3/2	VN	3/3	VN	3/3	3/3	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NTN</sup> 27	VN	3/3	3/3	VN	3/3	3/3	VN	3/3	VN	3/3	3/3	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NTN</sup> 28	VN	3/3	3/3	bo	3/0	3/0	CS	3/3	3/3	3/3	3/3	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NTN</sup> 29	VN	3/3	3/3	VN	3/3	3/3	VN	3/3	VN	3/3	3/3	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NTN</sup> 30	VN	3/3	3/3	bo	3/0	3/0	VN	3/3	3/3	3/3	3/3	bo	3/0	3/0
PVY <sup>NTN</sup> 31	VN	3/3	3/3	VN	5/5	5/5	VN	5/5	VN	5/5	5/5	bo	3/0	3/0

\* VN – nekroza nerwów, CS – plamy chlorotyczne, bo – bez objawów; PVY<sup>NTN</sup>20 – PVY<sup>NTN</sup>31 izolaty pochodzące z odmian i linii hodowlanych tytoniu

\*\* ELISA 1 – przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko różnym szczepom PVY (MoAbs anti Y)

\*\* ELISA 2 – przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko nekrotycznym szczepom PVY (MoAbs anti Y<sup>N</sup>)

Źródło: Wyniki badań własnych.

Tabela 3

Porównanie odporności linii hodowlanych tytoniu, odmiany Wiślica i odmiany kontrolnej Samsun H na wybrane izolaty PVY

Izolaty PVY	Liczba roślin inokulowanych/zainfekowanych														
	BPA		WABPA2		WABPA3		Wiślica		Samsun H						
	ELISA**		ELISA**		ELISA**		ELISA**		ELISA**						
	objawy*	1	2	objawy*	1	2	objawy*	1	2	objawy*	1	2			
PVY <sup>N</sup> W 1	16 bo, 4 CS	20/12	20/0	bo	10/0	10/0	bo	10/0	10/0	bo	10/0	10/0	VN	10/10	10/0
PVY <sup>N</sup> W 4	14 bo, 6 CS	20/16	20/0	bo	10/0	10/0	bo	10/0	10/0	VN	10/10	10/0	VN	10/10	10/0
PVY <sup>N</sup> W 13	VC, CS	20/10	20/0	bo	10/0	10/0	bo	10/0	10/0	CS	10/3	10/0	VN	10/10	10/0
PVY <sup>N</sup> IN 20	VC, CS	20/20	20/20	VN	10/10	10/10	VN	10/10	10/10	VN	10/10	10/10	VN	10/10	10/10
PVY <sup>N</sup> IN 21	VC, CS	20/20	20/20	VN	10/10	10/10	VN	10/10	10/10	VN	10/10	10/10	VN	10/10	10/10
PVY <sup>N</sup> IN 28	10 bo, 10CS	20/12	20/12	bo, CS	10/4	10/4	bo	10/0	10/0	VC	10/5	10/5	VN	10/10	10/10

\* VN – nekroza nerwów, CS – plamy chlorotyczne, VC – przejaśnienia nerwów, bo – bez objawów

\*\* ELISA 1 – przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko różnym szczepom PVY (MoAbs anti Y)

\*\* ELISA 2 – przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko nekrotycznym szczepom PVY (MoAbs anti Y<sup>N</sup>)

Źródło: Wyniki badań własnych.

W wyniku inokulacji linii BPA izolatem PVY<sup>NW</sup> 1 cztery rośliny wykazywały plamy chlorotyczne, a u 12 z 20 badanych roślin wirus był wykrywalny metodą serologiczną (tab. 3). Linie WAPBA 2 i WABPA 3 oraz odmiana Wiślica nie uległy porażeniu tym izolatem. Zastosowanie izolatu PVY<sup>NW</sup> 4, który w poprzednich badaniach przełamał odporność wszystkich badanych odmian (tab. 1), spowodowało podobne objawy u linii BPA, jak zastosowanie izolatu PVY<sup>NW</sup> 1, natomiast nie uległy porażeniu linie WABPA 2 i WABPA 3. Wszystkie rośliny odmiany Wiślica wykazały nekrozę nerwów po inokulacji tym izolatem (tab. 3). Podobnie reagowały rośliny linii BPA, WABPA 2 i WABPA 3 na zakażenie izolatem PVY<sup>NW</sup> 13; odmiana Wiślica wykazywała również tylko plamy chlorotyczne. Izolaty z grupy NTN (PVY<sup>NTN20</sup> i PVY<sup>NTN21</sup>) spowodowały przejaśnienia nerwów i plamy chlorotyczne na wszystkich roślinach BPA, nie wywołały jednak nekrozy nerwów, jak miało to miejsce w przypadku pozostałych linii hodowlanych i odmiany Wiślica. Reakcja na inokulację słabszym izolatem PVY<sup>NTN28</sup> była podobna, jak na dwa izolaty z grupy PVY<sup>NW</sup>.

Linia BPA ulegająca wprawdzie infekcji po zakażeniu słabszymi izolatami reagowała tylko objawami chlorotycznymi również w zetknięciu z izolatami wywołującymi objawy nekrotyczne na odmianach uznawanych dotychczas za odporne. W porównaniu z gatunkiem *N. africana*, będącym rodzicem ojcowskim w wyjściowym mieszańcu, od którego pochodzi linia BPA (10), widać wyraźnie, że odporność linii hodowlanej nie jest tak wysoka, jak gatunku dzikiego. Powodem tego jest najprawdopodobniej niekompletny transfer czynników odporności będący kompromisem pomiędzy odpornością a cechami użytkowymi, ważnymi z gospodarczego punktu widzenia. Przeniesienie odporności od *N. africana* nastąpiło prawdopodobnie w wyniku substytucji segmentalnej dotyczącej małego odcinka chromosomu, nie obejmującego wszystkich genów warunkujących kompletną odporność. Innym powodem niekompletnej odporności linii BPA może być niekorzystny wpływ genów z genomu *N. tabacum* obniżający ekspresję cechy odporności (10, 19). Linia BPA, będąca też przedmiotem badań w doświadczeniach polowych o różnej presji PVY, nigdy nie wykazała w Polsce i na Węgrzech objawów nekrotycznych. Linia ta reagowała podobnie na inokulację tytoniowymi izolatami zagranicznymi, jak też po inokulacji izolatami pochodzącymi z ziemniaka (9). Na podstawie przeprowadzonych badań odporność linii BPA należy określić jako tolerancję wobec różnych szczepów PVY.

Linia WABPA 3 wypadła w tej ocenie korzystniej niż odmiana Wiślica, a przy porównaniu skuteczności izolatu PVY<sup>NW</sup> 4 lepiej niż VAM i PBD 6, lecz uległa porażeniu przez dwa najbardziej wirulentne izolaty z grupy NTN. Prowadzone są dalsze badania nad selekcją linii o wyższym stopniu odporności i podejmowane próby określenia mechanizmów warunkujących tę odporność.

Inną grupę roślin stanowiących potencjalne źródło odporności tytoniu są rośliny transgeniczne. W wyniku transformacji odmian podatnych na PVY (Mac Nair 944, K326, BY 103, AC Gayed) przy użyciu trzech konstrukcji: LMV CP, pROKY1 i pROKY2 uzyskano linie transgeniczne (8, 9). Testy odpornościowe wszystkich roślin transgenicznych należących do pokoleń T<sub>2</sub> i T<sub>3</sub> poprzedzono badaniami potwier-

Tabela 4

Odporność linii transgenicznych pokoleń T<sub>2</sub> i T<sub>3</sub> na izolaty PVY

Linia*	Rośliny odporne na PVY (%)**		
	PVY <sup>NW</sup> 1	PVY <sup>NTN</sup> 20	PVY <sup>NTN</sup> 21
MN 944 LMV CP	86	80,3	51,5
K 326 LMV CP	9,1	10,9	15,6
BY 103 LMV CP	65,5	66	41,1
<b>Średnio LMV CP</b>	<b>53,5</b>	<b>52,4</b>	<b>36,1</b>
MN 944 ROKY1	0	0	0
K 326 ROKY1	35,3	5,8	9,5
BY 103 ROKY1	0	8,3	0
AC Gayed ROKY1	44,2	62,2	53,6
<b>Średnio ROKY1</b>	<b>19,9</b>	<b>19,1</b>	<b>15,7</b>
K 326 ROKY2	42,2	34,7	31,5
BY 103 ROKY2	40,7	22,5	10
AC Gayed ROKY2	100	80	71,4
<b>Średnio ROKY2</b>	<b>61</b>	<b>45,7</b>	<b>37,6</b>

\* MV CP, ROKY1, ROKY2 – konstrukcje obecne w liniach transgenicznych

\*\* PVY<sup>NW</sup> 1, PVY<sup>NTN</sup>20, PVY<sup>NTN</sup>21 – izolaty pochodzące z odmian i linii hodowlanych tytoniu

Źródło: Czubačka A., 2005 (6).

dzającymi obecność transgeny, a następnie po około 20 roślin z każdej linii poddano inokulacji przy użyciu izolatów: PVY<sup>NW</sup> 1, PVY<sup>NTN</sup> 20 i PVY<sup>NTN</sup>21 (6); (tab. 4).

Biorąc pod uwagę użyte konstrukcje najskuteczniejszą ochronę przed trzema izolatami PVY stanowiły transgeny LMV CP i ROKY2. Mniejszą liczbę roślin odpornych zanotowano wśród transformowanych konstrukcją ROKY1. Rozpatrując aspekt odmianowy zdecydowanie najwięcej roślin odpornych stwierdzono wśród transgenicznych linii AC Gayed i MN 944, mniej w obrębie odmiany BY 103. Najmniej efektywną ochroną przed PVY charakteryzowała się odmiana K 326. Natomiast linia AC Gayed ROKY2 wykazywała dużą odporność na trzy izolaty wirusa Y ziemniaka, gdzie 71,4-100% należących do niej roślin było odpornych na brunatną nekrozę nerwów liści tytoniu.

Celem weryfikacji stabilności cechy odporności podjęto badania nad kolejnymi pokoleniami linii transgenicznych, charakteryzującymi się największą odpornością na PVY w poprzednich badaniach (tab. 4).

Do dalszych prac wytypowano dwie linie – MN 944 zawierającą konstrukcją LMV CP i AC Gayed niosącą konstrukcję ROKY2. Do badań odpornościowych użyto trzy izolaty: PVY<sup>NTN</sup> 32, PVY<sup>NW</sup> 18 i PVY<sup>NW</sup> 19 pozyskane w warunkach polowych z odpornych odmian tytoniu (tab. 5). Linia transgeniczna MN 944 LMV CP okazała się odporna na wszystkie użyte izolaty, podczas gdy linia AC Gayed niosąca transgen ROKY2 uległa porażeniu wykazując nekrozy nerwów. Obniżenie stopnia odporności roślin z linii AC Gayed ROKY2 w stosunku do pokolenia poprzedniego mogło być spowodowane wzrostem metylacji transgeny, która może skutkować jego inaktywacją.

Tabela 5

Odporność wybranych linii transgeniczných pokolenia T4 na izolaty PVY

Izolaty PVY	Liczba roślin inokulowanych/Liczba roślin porażonych								
	MN 944 LMV CP			AC Gayed ROKY2			Samsun H		
	objawy*	ELISA**		objawy*	ELISA**		objawy*	ELISA**	
1		2	1		2	1		2	
PVY <sup>NIN</sup> 32	b.o.	5/0	5/0	NV	4/4	4/4	NV	2/2	2/2
PVY <sup>NW</sup> 18	b.o.	5/0	5/0	NV	3/2	3/0	NV, VC	2/2	2/0
PVY <sup>NW</sup> 19	b.o.	1/0	1/0	NV,CS	5/2	5/0	NV	2/2	2/0

\* VN – nekroza nerwów, CS – plamy chlorotyczne, VC – przejaśnienia nerwów, bo – bez objawów

\*\* ELISA 1 – przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko różnym szczepom PVY (MoAbs anti Y)

\*\* ELISA 2 – przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko nekrotyczným szczepom PVY (MoAbs anti Y<sup>N</sup>)

Źródło: Wyniki badań własnych.

Zjawisko takie obserwowano w przypadku transgenicznego ryżu (18). Stan inaktywacji transgenu jest często dziedziczny, a jego metylacja może rosnać w kolejnych pokoleniach.

### Podsumowanie

Przeprowadzone badania wykazują zróżnicowanie odporności na PVY wśród badanych odmian i linii hodowlanych tytoniu. Dotyczy ono różnych źródeł pochodzenia odporności, mechanizmów jej funkcjonowania i przede wszystkim reakcji w zetknięciu z nowymi izolatami. Prowadzone są prace nad możliwością połączenia dostępnych źródeł odporności w celu uzyskania genotypów o kompleksowej odporności na występujące obecnie szczepy i izolaty PVY. Pozytywne efekty łączenia dwóch źródeł odporności zaobserwowali Xu i in. (24). Skrzyżowanie tytoniu zawierającego transgen białka płaszczki wirusa TVMV (*Tobacco vein mottling virus*) z nietransgeniczným, ale zawierającym endogenny gen odporności VAM (ang. Virgin A Mutant) pozwoliło na podniesienie odporności przeciw potywirusom (wirusom Y ziemniaka) i rozszerzenie jej spectrum. Wstępne wyniki badań własnych wskazują również na możliwość efektywnego połączenia różnych źródeł odporności na PVY w jednym genomie.

### Literatura

1. Blancard D., Ano G., Cailleteau B.: Etude du pouvoir pathogène d'isolates de PVY sur tabac: proposition d'une classification intégrant la résistance a la nécrose. Ann. Tabac, 1995, **27**: 43-50.
2. Carsten H., Seehofer F.: How Virginia SCR is obtained and cultivated in Federal Republic of Germany. CORESTA, 1960, **3**: 39-43.
3. Chachulska A.M., Chrzanowska M., Flis B., Krzymowska M., Lipska-Dwuznik A., Robaglia C., Zagórski W.: Potato and Tobacco cultivars transformation towards potato virus Y resistance. Biotechnologia, 1997, **4(39)**: 48-54.

4. Chrzanowska M., Doroszevska T.: Comparison between PVY isolates obtained from potato and tobacco plants in Poland. *Phytopathol. Pol.*, 1997, **13**: 63-71.
5. Clark M. F., Adams A. N.: Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant virus. *J. Gen. Virol.*, 1977, **34**: 475-483.
6. Czubačka A.: Badania odporności roślin transgenicznych tytoniu (*Nicotiana tabacum* L.) na wirusa Y ziemniaka (PVY) i ocena ich cech użytkowych. Praca doktorska, IUNG Puławy, 2000.
7. Dinant S., Maisonneuve B., Albouy J., Chupeau Y., Chupeau M. C., Bellec Y., Gaudefroy F., Kusiak C., Souche S., Robaglia C., Lot H.: Coat protein gene-mediated protection in *Lactuca sativa* against lettuce mosaic potyvirus strains. *Mol. Breed.*, 1997, **3(1)**: 75-86.
8. Doroszevska T., Chachulska A. M.: Możliwości uzyskiwania odporności na choroby wirusowe tytoniu. *Biotechnologia*, 2000, **4(51)**: 128-141.
9. Doroszevska T.: Krzyżowanie oddalone i transformacja genetyczna w uzyskiwaniu odporności tytoniu (*Nicotiana tabacum* L.) na wirusa Y ziemniaka. *Monogr. Rozpr. Nauk.*, IUNG Puławy, 2004, **6**.
10. Doroszevska T.: Uzyskanie stabilnych linii hodowlanych tytoniu z czynnikami odporności na różne izolaty wirusa Y ziemniaka (PVY) od dzikiego gatunku *Nicotiana africana* Merxm. *Biul. IHAR*, 2007, **244**: 273-287.
11. Doroszevska T., Verrier J. L.: Sub-Group Collaborative Study on Potato Virus Y. Annual Subgroup Report 2004, CORESTA CD-ROM Version N°20.
12. Glais L., Tribodet M., Gauthier J. P., Astier-Manifacier S., Robaglia C., Kerlan C.: RLFP mapping of the whole genome of ten viral isolates representative of the different biological groups of *Potato Virus Y*. *Arch. Virol.*, 1998, **143**: 2077-2091.
13. Glais L., Tribodet M., Kerlan C.: Genomic variability in Potato potyvirus Y (PVY): evidence that PVY<sup>NW</sup> and PVY<sup>NTN</sup> variants are single to multiple recombinants between PVY<sup>0</sup> and PVY<sup>N</sup> isolates. *Arch. Virol.*, 2002, **147**: 363-378.
14. Golnik K., Syller J., Chrzanowska M., Sztangret-Wiśniewska J.: Metody identyfikacji szczepów wirusa Y ziemniaka. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Rośl.*, 2007, **47**: 94-96.
15. Guggerli P., Fries P.: Characterization of monoclonal antibodies to potato virus Y and their use for virus detection. *J. Gen. Virol.*, 1983, **64**: 2471-2477.
16. Kerlan C., Chrzanowska M., Glais L., Fremondiere G., Tribodet M.: Biological and molecular characterization of various PVY<sup>NW</sup> isolates. 11<sup>th</sup> EAPR Virol. Sec. Meet., Trest, Czech Republic, 2001, 1-3.
17. Koelle G.: Genetische Analyse einer Y-virus (Rippen-braune) resistenten Mutante der Tabak-sorten Virgin A. *Der Zuchter*, 1961, **31**: 71-72.
18. Kumpatla S. P., Hall T. C.: Recurrent onset of epigenetic silencing in rice harboring a multi-copy transgene. *Plant J.*, 1998, **14(1)**: 129-135.
19. Lewis R. S.: Transfer of resistance to potato virus Y (PVY) from *Nicotiana africana* to *Nicotiana tabacum*: possible influence of tissue culture on the rate of introgression. *Theor. Appl. Genet.* 2005, **110**: 678-687.
20. Lucas G. B., Gooding G. V., Sasser J. N., Gerstel D. U.: Reaction of *Nicotiana africana* to black shank, Granville wilt, tobacco mosaic virus and potato virus Y. *Tob. Sci.*, 1980, **24**: 141-142.
21. Noguchi S., Tajima T., Yamamoto Y., Kubo T.: Identification of RAPD markers linked to potato virus Y resistance gene in tobacco. *Inf. Bull. CORESTA Yokohama*, 1996, 9.
22. Verrier J. L.: PVY Collaborative Experiment. Results 2001. Altadis, Institut du Tabac, Bergerac, France.
23. Voelk J.: Transmission de la souche du virus Y responsable de la maladie des cotes brunes. Deuxieme Congres Scientifique International du Tabac, Bruksela, 1958, 150-155.
24. Xu D., Collins G. B., Hunt A. G., Nielsen M. T.: Combining a host gene and tobacco vein mottling virus coat protein gene for broad and effective resistance to potyviruses in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Mol. Breed.*, 1997, **3(4)**: 331-339.

Adres do korespondencji:

*doc. dr hab. Teresa Doroszevska*  
*Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin*  
*IUNG-PIB*  
*ul. Czartoryskich 8*  
*24-100 Puławy*  
*tel.: 081 886 34 21 w. 216*  
*e-mail: [dorter@iung.pulawy.pl](mailto:dorter@iung.pulawy.pl)*



**Dorota Laskowska**

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy  
w Puławach*

## CHARAKTERYSTYKA GROŹNEJ CHOROBY TYTONIU – BRĄZOWEJ PLAMISTOŚCI POMIDORA I ROLA WEKTORA W JEJ PRZENOSZENIU\*

### Wstęp

Brązowa plamistość pomidora, powodowana przez *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), wśród plantatorów tytoniu znana jest także pod nazwami *Lycopersicum virus 3* lub „choroba lubelska”.

TSWV należy do rodzaju *Tospovirus*, rodziny *Bunyaviridae* (3). Jest to wirus o bardzo szerokim zasięgu geograficznym, który atakuje 1090 gatunków roślin należących do 85 rodzin botanicznych (16). TSWV może być przenoszony z rośliny chorej na zdrową jedynie za pośrednictwem wektora. Na świecie występuje co najmniej osiem gatunków wciornastków z rzędu przyłżeńców (*Thysanoptera*) zdolnych do przenoszenia i namnażania tego wirusa (19, 22).

TSWV jest jednym z najbardziej patogenicznych i agresywnych spośród znanych obecnie wirusów roślinnych i sprawcą jednej z najbardziej niszczycielskich chorób tytoniu, której zasięg występowania stale się powiększa. Znajomość biologii wirusa i jego wektorów umożliwia skuteczniejszą walkę z tym patogenem.

### Występowanie, biologia i znaczenie choroby

Wirus brązowej plamistości pomidora jest obecnie jednym z 10 wirusów roślinnych powodujących największe straty plonów roślin rolniczych i ogrodniczych (6, 13). Duże ekonomiczne znaczenie TSWV wynika m.in. z jego szerokiego geograficznego rozprzestrzenienia, obejmującego zarówno strefę klimatu umiarkowanego, jak i zwrotnikowego oraz równikowego (rys. 1); (2). Szacuje się, że roczne straty spowodowane w uprawach na całym świecie przez TSWV sięgają 1 miliarda dolarów (1, 6).

*Tomato spotted wilt virus* znajduje się na liście A wykazu organizmów szkodliwych podlegających zwalczaniu (tzw. lista kwarantannowa); (18). W Polsce TSWV może występować na takich roślinach użytkowych, jak: pomidor, papryka, groch, bób, seler, sałata, cykoria, cebula, por, dalia, chryzantema, gerbera, irys, a z upraw rolni-

---

\* Opracowanie wykonano w ramach zadania 2.7 w programie wieloletnim IUNG - PIB



Rys. 1. Występowanie TSWV na świecie

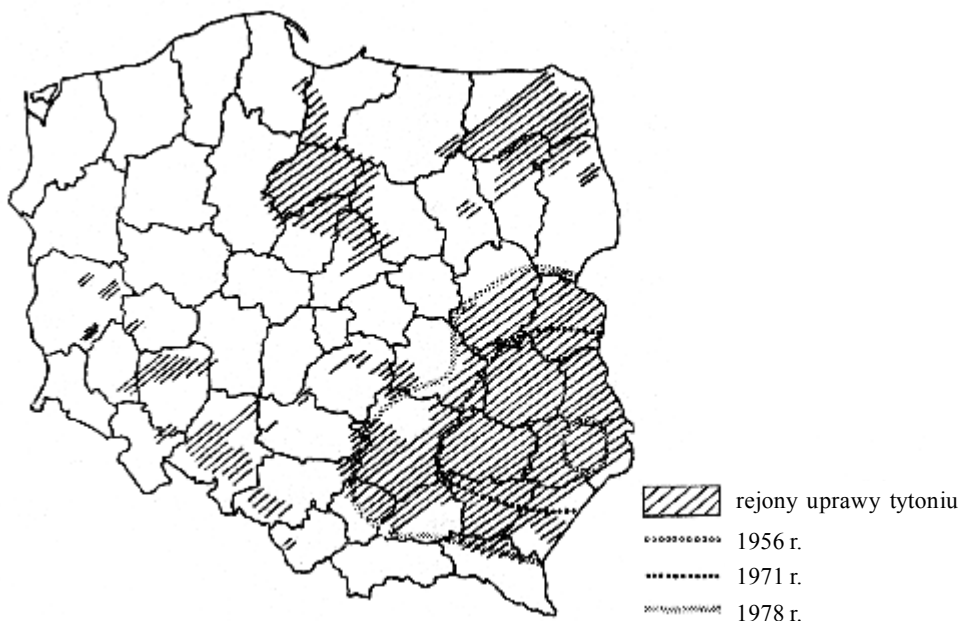
Źródło: de Avilla A. C., 1992 (2).

czych atakuje głównie tytoń. TSWV jest groźny dla ziemniaka, ale do tej pory na tej roślinie w Polsce wirus nie był obserwowany, natomiast powoduje straty w Argentynie, Australii, Brazylii, Indiach i Afryce Południowej.

W warunkach klimatycznych Polski do popularnych chwastów będących gospodarzami TSWV należą: komosa biała (*Chenopodium album*), gwiazdnica pospolita (*Stellaria media*), żóltlica drobnokwiatowa (*Galinsoga parviflora*), babka zwyczajna (*Plantago major*), starzec pospolity (*Senecio vulgaris*); (24). TSWV jest również przenoszony przez *Thrips* na niektóre pospolite dziko rosnące krzewy, na przykład bez czarny (*Sambucus nigra*); (12).

Ponieważ TSWV nie jest przenoszony przez nasiona (17), więc w Europie Środkowej i Wschodniej wirus może przetrwać sezon zimowy jedynie w ciałach przenoszących go owadów lub w dwuletnich i wieloletnich chwastach. Przechowywanie i stałe rozprzestrzenianie się TSWV jest możliwe dzięki szczególnemu powiązaniu zainfekowanych chwastów, podatnych roślin uprawnych i gatunków wciornastków będących wektorami wirusa (8).

Wirus ten pojawił się po raz pierwszy na tytoniu w Polsce w 1950 roku, od tego czasu jego zasięg stopniowo rozszerza się w kierunku zachodnim (rys. 2); (23). Obecnie jego występowanie obejmuje trzy południowe rejony uprawy tytoniu. Według informacji uzyskanych od Związków Plantatorów Tytoniu i firm zajmujących się skupem surowca tytoniowego zniszczenia spowodowane przez TSWV w 2007 roku w lubelsko-podkarpackim i świętokrzysko-małopolskim rejonie uprawy tytoniu wynosiły 5-40%, a w dolnośląskim obejmowały 10-45% plantacji (m.in. H. Nocoń – infor-



Rys. 2. Zasięg występowania TSWV na tytoniu w Polsce w latach 1956–1978

Źródło: Zawirska I., 1979 (22).

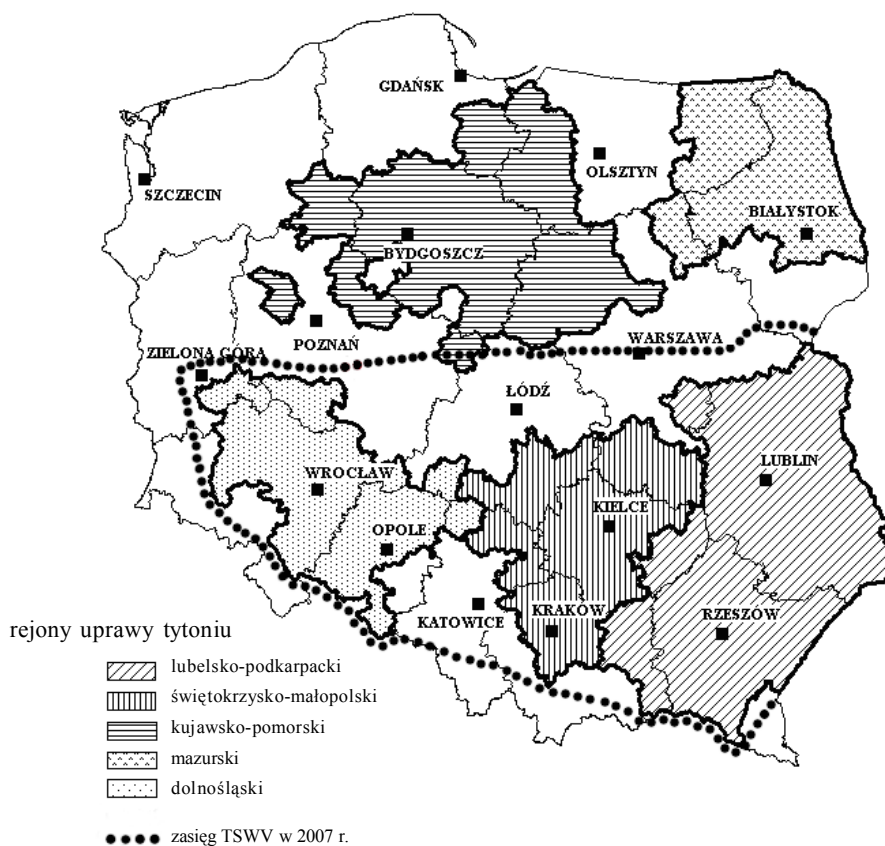
macja ustna). W 2007 roku stwierdzono też niewielką liczbę porażonych roślin w rejonie kujawsko-pomorskim. Rejon mazurski jest jak dotąd całkowicie wolny od tego wirusa (rys. 3).

Od końca lat osiemdziesiątych TSWV staje się w Polsce poważnym problemem w uprawie roślin pod osłonami. K a m i ń s k a i K o r b i n (10) wiążą to z masowym importem w tym czasie roślin ozdobnych i sprowadzeniem wraz z nimi nowego wektora choroby – wciornastka zachodniego (*Frankliniella occidentalis* Pergande), który w krajach sąsiadujących z Polską powoduje epidemiczne rozprzestrzenianie TSWV również w uprawach polowych. W Europie obserwuje się obecnie migrację innych potencjalnych wektorów tej choroby, takich jak *Frankliniella schultzei* Trybom czy *Thrips palmi* Karny (9). W polskich warunkach klimatycznych nowe gatunki wciornastków mogą przetrwać zimę jedynie w szklarni.

### Objawy choroby

Infekując rośliny wirus powoduje zróżnicowane objawy w zależności od gospodarza, którego zaatakował. Generalnie powoduje plamy nekrotyczne, smugi, plamy w kształcie pierścieni, niedorozwój i więdnienie roślin (5, 14).

U tytoniu najbardziej typowe objawy choroby, takie jak: chlorozy i nekrozy liści, charakterystyczne żółknięcie i zagięcie wierzchołka oraz karłowacenie roślin są wi-



Rys. 3. Zasięg występowania TSWV na tytoniu w Polsce w 2007 r.

Źródło: Opracowanie własne.

doczne na zaatakowanych plantacjach w czerwcu i na początku lipca. Dzieje się tak między innymi dlatego, że objawy występowania TSWV są najlepiej widoczne w temperaturze nieco powyżej 20°C. W chłodniejszych okresach wirus może występować bezobjawowo lub rozprzestrzeniać się nierównomiernie. Typowe symptomy obserwuje się wówczas na niektórych pędach, podczas gdy inne bywają nieporażone, a wcześniejsze bardzo wyraźne oznaki wiryzy okresowo zanikają i roślina wydaje się zdrowa.

Symptomy infekcji wirusa mogą przypominać infekcję bakteryjną, grzybową, a nawet warunki stresu środowiskowego, dlatego precyzyjna diagnoza powinna opierać się na badaniu obecności cząstek wirusa metodą ELISA. W Zakładzie Hodowli i Biotechnologii Roślin IUNG-PIB istnieje możliwość wykonania tego typu badań.

### Charakterystyka wektora

W Polsce oraz w Europie Środkowej i Wschodniej tytoń jest infekowany przez wirusa TSWV za pośrednictwem wciornastka tytoniowca (*Thrips tabaci*); (8, 23), natomiast w Europie Zachodniej oraz prawie wszystkich pozostałych rejonach świata za pośrednictwem gatunków z rodzaju *Frankliniella* (11, 21).

Wciornastki są ciemnymi, bardzo drobnymi (ok. 1 mm), szybko poruszającymi się owadami. Najczęściej można je zauważyć na dolnej stronie liści tytoniu. Szkodliwość wciornastków polega na przenoszeniu TSWV oraz na powodowaniu uszkodzeń liści podczas nakłuwania i wysysania komórek skórki. Nie wszystkie populacje i podgatunki *Thrips tabaci* są zdolne do infekowania roślin – gospodarzy (8). Do infekowania tytoniu w Polsce zdolne są wyłącznie populacje biseksualne podgatunku *Thrips tabaci tabaci* Lind. Osobniki rasy tytoniowej, mimo wyraźnej specjalizacji pokarmowej, są spotykane pojedynczo również na innych roślinach, a na wiosnę przed wysadzeniem tytoniu i na jesieni po zbiorach liści żerują i rozmnażają się na chwastach (23). Specjalizacja podgatunku *Thrips tabaci tabaci* do żerowania na tytoniu prawdopodobnie powoduje, że wektor ten nie przenosi TSWV na uprawy ziemniaka czy pomidora.

Dorosłe formy wciornastka nie nabywają wirusa. Wirus może być nabyty przez te owady jedynie w stadium larwalnym, podczas płytkiego żerowania w epidermalnych komórkach liści zainfekowanych roślin (20). Najkrótszy zanotowany czas żeru nabywczego wynosi 15 minut, ale skuteczność przenoszenia wirusa wzrasta wraz z wydłużaniem się czasu żerowania. Wirus w stanie utajonym przechodzi przez stadia linienia i poczwarki zakażonej larwy. Przepoczwarczenie odbywa się w podłożu. Wirus ujawnia się i namnaża dopiero w dorosłej formie owada, przez którą może być przenoszony i zarażać kolejne rośliny (14, 21). Zakażony przez TSWV dorosły owad pozostaje zagrożeniem dla roślin przez całe swoje życie, które może trwać od jednego do pięciu miesięcy. W naszych warunkach klimatycznych TSWV może przetrwać zimę w ciałach zapadających w sen zimowy *Thrips tabaci* (7, 15). Wciornastki są owadami bardzo żarłocznymi, stąd ilość roślin zarażonych przez jednego osobnika może być bardzo duża. Szkodniki te są trudne do zwalczania ze względu na lokalizację na roślinie, szybkie tempo rozmnażania, przebywanie larw pod powierzchnią gleby, powstawanie populacji opornych na insektycydy i konieczność wielokrotnego powtarzania zabiegów.

### Zwalczanie wirozy

W warunkach naturalnych wirus TSWV nie przenosi się z rośliny chorej na zdrową mechanicznie poprzez sok (na przykład przez ocieranie się o siebie roślin uszkodzonych przy pracach pielęgnacyjnych), ani też nie jest przenoszony poprzez nasiona czy pyłek, a jedynie za pośrednictwem wektora (17).

Obecnie brak w uprawie produkcyjnej tytoniu odmian odpornych na TSWV, dlatego jedynym sposobem walki z chorobą jest intensywne zwalczanie jego wektora – *Thrips tabaci* – przez wielokrotne stosowanie insektycydów. Ważne jest zwalczanie

pokolenia zimującego przez usuwanie resztek roślinnych z pola oraz jesienne opryski pola i sąsiadujących miedz, gdzie wciornastek może zimować m.in. na chwastach. Miejscem zimowania wciornastka mogą być szklarnie i tunele foliowe, które należy również opryskać. Walka z wciornastkiem za pomocą środków owadobójczych nie jest w pełni efektywna, gdyż zakażone osobniki są stale nawiewane na pola z zewnętrznych rezerwuarów wirusa. Ponadto przy powtarzaniu zabiegów pewnymi insektycydami *Thrips tabaci* wytwarza populacje odporne; z tych względów ważna jest rotacja insektycydów o różnych substancjach aktywnych.

Niestety walka z TSWV naturalnymi sposobami, takimi jak zmianowanie roślin, przeważnie okazuje się bezskuteczna, ponieważ wciornastek żeruje na wielu gatunkach, również chwastach. Dobrą metodą walki z brązową plamistością pomidora byłby system przewidywania pojawu zakażonych wciornastków i sygnalizacji terminów ich zwalczania.

W ramach profilaktyki konieczna jest izolacja produkcji rozsady od upraw pomidora i roślin ozdobnych. Najgroźniejszym źródłem infekcji w szklarni są rozmnażane wegetatywnie rośliny ozdobne, szczególnie te reagujące na infekcję lekkimi objawami lub pozbawione objawów. Zarówno otoczenie rozsadników (szklarni, tuneli foliowych), jak i ich wnętrza powinny być wolne od chwastów.

Niewskazane jest, aby tytoń sadzić bezpośrednio po uprawach ziemniaka i pomidora lub w sąsiedztwie tych upraw, ze względu na zagrożenie TSWV, jak również innymi chorobami wirusowymi i grzybowymi. Chore rośliny należy natychmiast usuwać z pola, a następnie niszczyć.

Genetyczna odporność wydaje się najlepszym sposobem kontrolowania tej choroby. W Zakładzie Hodowli i Biotechnologii Roślin IUNG-PIB w Puławach prowadzi się hodowlę tytoniu w kierunku odporności na TSWV z wykorzystaniem odmiany Polalta jako źródła odporności (4). W wyniku tych prac uzyskano linie hodowlane (Pol-Wi 834, Pol-Wi 819, Pol-Wi 812) stanowiące dobry materiał wyjściowy do otrzymania odmian odpornych o charakterze użytkowym.

### Podsumowanie

Brązowa plamistość pomidora jest szeroko rozpowszechnioną i ekonomicznie ważną chorobą, która w ostatnich latach powoduje coraz większe szkody w uprawach wielu roślin użytkowych. W Polsce choroba ta jest obecnie największym problemem w uprawach tytoniu i roślin szklarniowych. Jednak w związku ze zmianami klimatycznymi, migracją nowych wektorów oraz uodpornianiem się ich na środki owadobójcze należy przewidywać rozszerzanie się tej wirozy, zarówno jeśli chodzi o zakres roślin żywicielskich, jak i zasięg geograficzny. Należałoby zwrócić szczególną uwagę na migrację głównego wektora TSWV na świecie – *Frankliniella occidentalis* – owada polifagicznego, zdolnego również do zakażenia ziemniaka, ponieważ obecnie trwa jego ekspansja w obrębie agrocenoz całej Europy.

## Literatura

1. Adkins S.: Pathogen profile. Tomato spotted wilt virus-positive steps towards negative success. *Molec. Plant Pathol.*, 2000, **1(3)**: 151-157.
2. De Avilla A. C.: Diversity of tospoviruses. Ph.D. Thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen, Netherlands, 1992, 136.
3. Francki R. I. B., Fauquet C. M., Knudson D. D., Brown F.: Fifth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Arch. Virol. Suppl.*, 1991, **2**:1-450.
4. Gajos Z.: Polalita – odmiana tytoniu odporna na wirus brązowej plamistości pomidora (TSWV) i czarną zgniliznę korzeni (*Thielaviopsis basicola* Ferr.). *Biul. CLPT*, 1988, **1-4**: 5-19.
5. German T. L., Ullman D. E., Moyer J. W.: Tospoviruses: Diagnosis, molecular biology, phylogeny, and vector relationships. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 1992, **30**: 315-348.
6. Goldbach R., Peters D.: Possible causes of the emergence of tospovirus diseases. *Sem. Virol.*, 1994, **5**: 113-120.
7. Jenser G., Gaborjanyi R., Szenasi A., Almasi A., Grasselli M.: Significance of hibernated *Thrips tabaci* Lindeman (*Thysan.*, *Thripidae*) adults in the epidemic of tomato spotted wilt virus. *J. Appl. Entomol.*, 2003, **127**: 7-11.
8. Jenser G., Szenasi A.: Review of the biology and vector capacity of *Thrips tabaci* Lindeman (*Thysanoptera: Thripidae*). *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.*, 2004, **39(1-3)**: 137-155.
9. Jones D. R.: Plant viruses transmitted by thrips. *Europ. J. Plant Pathol.*, 2005, **113**: 119-157.
10. Kamińska M., Korbin M.: Wirus brązowej plamistości pomidora – występowanie i wykrywalność. *Mat. Symp. „Biotyczne środowisko uprawne a zagrożenie chorobowe roślin”*, AR-T Olsztyn, 1993.
11. Marchoux G.: La transmission de virus par *Frankliniella occidentalis* et autres thrips. *Phytoma*, 1990, **422**: 40-45.
12. Mertelik J., Gotzova B., Mokra V.: Epidemiological aspects of tomato spotted wilt virus infection in the Czech Republic. *Acta Hort.*, 1996, **432**: 368-375.
13. Moyer J. W., German T., Sherwood J. L., Ullman D.: An update on tomato spotted wilt virus and related tospoviruses. APSnet Feature at: <http://www.scisoc.org/feature/tospovirus/Top.html>, 1999.
14. Mumford R. A., Barker I., Wood K. R.: The biology of the tospoviruses. *Ann. Appl. Biol.*, 1996, **128**: 159-183.
15. Nagata T., Stroms M. M., Goldbach R., Peters D.: Multiplication of tomato spotted wilt virus in primary cell cultures derived from two thrips species. *Virus Research.*, 1997, **49**: 59-66.
16. Parrella G., Gognalons P., Gebre-Selassie K., Vovlas C., Marchoux G.: An update of the host range of tomato spotted wilt virus. *J. Plant Pathol.*, 2003, **85(4)**: 227-264.
17. Rosello S., Diez M. J., Nuez F.: Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. I. Tomato spotted wilt virus – a review. *Scientia Horticult.*, 1996, **67**: 117-150.
18. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 września 2001 r. w sprawie zwalczania organizmów szkodliwych (Dz. U. Nr 114 z dnia 10.10.2001).
19. Sin S-H., McNulty B. C., Kennedy G. G., Moyer J. W.: Viral genetic determinants for thrips transmission of tomato spotted wilt virus. *PNAS*, 2005, **102(14)**: 5168-5173.
20. Ullman D. E., German T. L., Sherwood J. L., Westcot D. M., Cantone F. A.: Tospovirus replication in insect vector cells: immunocytochemical evidence that the nonstructural protein encoded by the S RNA of tomato spotted wilt tospovirus is present in thrips vector cells. *Phytopathology*, 1993, **83**: 456-463.
21. Ullman D. E., Sherwood J. L., German T. L.: Thrips as a vectors of plant pathogens. In: *Thrips as crop pests* (Lewis T. L., ed.). London: CAB International, 1997, 539-565.
22. Wijkamp I., VanLent J., Kormelink R., Goldbach R., Peters D.: Multiplication of tomato spotted wilt virus in its insect vector, *Frankliniella occidentalis*. *J. Gen. Virol.*, 1993, **74**: 341-349.

23. Zawirska I.: Studia nad wciornastkiem tytoniowcem (*Thrips tabaci* Lind.) i jego rolę w przenoszeniu brązowej plamistości pomidora (TSWV) na tytoniu. Mat. XIX Sesji Nauk. IOR, Poznań, 1979, 267-278.
24. Zawirska I., Ruszkiewicz M., Miciński B.: The problem of tomato spotted wilt virus (TSWV) in Poland. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 1983, **291**: 393-405.

Adres do korespondencji:

*dr Dorota Laskowska*  
*Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin*  
*IUNG-PIB*  
*ul. Czartoryskich 8*  
*24-100 Puławy*  
*tel. (081) 886 34 21, w. 218*  
e-mail: [Dorota.Laskowska@iung.pulawy.pl](mailto:Dorota.Laskowska@iung.pulawy.pl)



Apoloniusz Berbec

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy  
w Puławach*

## ZNACZENIE UŻYTKOWE I WARTOŚĆ KOMBINACYJNA NOWYCH LINII USTALONYCH I MIESZAŃCÓW TYTONIU TYPU VIRGINIA\*

### 1. Wstęp

Czarna zgnilizna korzeni tytoniu powodowana przez grzyb *Chalara elegans* jest jedną z najbardziej uciążliwych chorób tytoniu typu Virginia w Polsce. W przypadku Wiślicy, do niedawna głównej odmiany w tym typie, obserwuje się od wielu lat postępujący spadek plonów i ich jakości, co niewątpliwie należy wiązać z nasilającym się występowaniem tej choroby. Odpowiedzią na ten problem było wyhodowanie w IUNG-PIB w Puławach odmian Virginii odpornych genetycznie na grzyb *Chalara elegans* (1). Wprowadzenie tych odmian do praktyki plantatorskiej poprzedziło wyhodowanie szeregu linii hodowlanych, zasadniczo zbliżonych morfologicznie i walorami użytkowymi do odmiany Wiślica, ale posiadających czynnik odporności na czarną zgniliznę korzeni pochodzący z dzikiego gatunku tytoniu *Nicotiana debneyi* (3). Posiadane linie hodowlane pozwalają na uzyskanie, poprzez krzyżowanie między sobą bądź z innymi odmianami, znacznej liczby mieszańców międzyodmianowych  $F_1$  (2). Interesującym zagadnieniem było zbadanie potencjału tych linii do tworzenia wartościowych pod względem użytkowym kombinacji mieszańcowych. W tym celu badano wzrost, rozwój i plonowanie 4 odpornych linii hodowlanych i 6 mieszańców wyprowadzonych z tych linii. Potencjał linii hodowlanych do tworzenia wartościowych mieszańców określono statystycznie za pomocą dwóch wskaźników:

- **ogólnej wartości kombinacyjnej** – określającej różnicę między średnim wynikiem kombinacji mieszańcowych zawierających daną linię i średnim wynikiem dla wszystkich badanych mieszańców i linii;
- **swoistej wartości kombinacyjnej** – określającej różnicę między rzeczywistym wynikiem dla danej kombinacji mieszańcowej a wynikiem spodziewanym na podstawie ogólnej wartości kombinacyjnej komponentów danego mieszańca.

---

\* Opracowanie wykonano w ramach zadania 2.7 w programie wieloletnim IUNG - PIB

### Material i metody badań

Material badawczy stanowiły kreacje wyszczególnione w tabeli 1, którymi były linie ustalone tytoniu Virginia i mieszańce  $F_1$  utworzone w wyniku skrzyżowania tych linii.

Obiektem kontrolnym (referencyjnym) była odmiana Wiślica, w Polsce traktowana jako odmiana wzorcowa w tym typie użytkowym tytoniu.

Linie i mieszańce tytoniu badano w ścisłym doświadczeniu polowym założonym metodą bloków losowanych w 2006 roku. Doświadczenie przeprowadzono w RZD Puławy-Kępa na madzie rzecznej. Wielkość poletka wynosiła 27 m<sup>2</sup>, liczba roślin na poletku – 81, w rozstawie 90 x 40 cm, liczba powtórzeń – 4.

Zabiegi uprawowe stosowane w doświadczeniu wyszczególniono w tabeli 2.

Pomiary biometryczne w czasie wegetacji prowadzone na 10 roślinach pomiarowych obejmowały wysokość roślin w pełni kwitnienia, liczbę liści na roślinie, długość i szerokość liści nadspodakowych (liść 5), środkowych (liść 10) i podwierzchołkowych (liść 15). Wielkość (powierzchnię) liścia obliczono stosując formułę: 0,675 x długość x szerokość. Na podstawie obserwacji przebiegu kwitnienia wyznaczono okres od posadzenia tytoniu w polu do początku kwitnienia. Do celów statystycznych uwzględniano średnią z 10 roślin (średnia poletkowa).

Określono plon z poletek z uwzględnieniem klas wykupowych. Na podstawie taryfy wykupowej stosowanej w roku 2006 przez jednego z głównych – pierwszych – przetwórców skupujących tytoń w Polsce (Universal Leaf Tobacco Poland) i dopłaty do 1 kg tytoniu Virginia obowiązującej w 2006 roku obliczono szacunkową wartość plonu z 1 ha w zł.

Obliczenia statystyczne obejmowały analizę wariancji i wyznaczenie najmniejszej istotnej różnicy (HSD Tukey'a) przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

Kombinacje mieszańcowe badano w układzie półdialelicznym (badane linie i wszystkie kombinacje mieszańcowe między nimi bez mieszańców odwrotnych). Taki układ

Tabela 1

Obiekty badawcze: linie i mieszańce  $F_1$  tytoniu typu Virginia

Nr	Linia	Skrót stosowany na wykresach
1.	WAC 119	L 119
2.	WAC 120	L 120
3.	WAC 121	L 121
4.	WTN 120	WTN
5.	WAC 119 x WAC 120	119 x 120
6.	WAC 119 x WAC 121	119 x 121
7.	WAC 119 x WTN 120	119 x WTN
8.	WAC 121 x WAC 120	121 x 120
9.	WTN 120 x WAC 121	WTN x 121
10.	WAC 120 x WTN 120	120 x WTN
11.	Wiślica	odmiana kontrolna (referencyjna)

Źródło: Opracowanie własne.

Tabela 2

Zabiegi uprawowe stosowane w doświadczeniu polowym z liniami ustalonymi i mieszańcami F<sub>1</sub> tytoniu Virginia

Zabieg/Czynność	Metoda	Data zastosowania
Produkcja rozsady	system tacowy hydroponiczny (tace styropianowe 40 x 60 cm – 240 komórek na tacę)	data siewu: 4 kwietnia
Przygotowanie stanowiska	– ogólnie stosowane zabiegi uprawowe i nawożenie wyłącznie mineralne (NPK) oraz przygotowanie redlin na ok. 1 tydzień przed sadzeniem – zastosowanie preparatu Devrinol (substancja czynna napropamid) w celu zwalczania chwastów	
Wysadzanie w polu	ręczne	16 maja
Uprawa międzyrzędowa	odchwaszczanie mechaniczne, redlenie, obsypywanie	
Ochrona roślin	zwalczanie wciornastków, mączniaka rzekomego tytoniu i szkodników glebowych zgodnie z zaleceniami	
Ogławianie	ręczne, 10 roślin pomiarowych na każdym poletku pozostawionych z kwiatostanem	w fazie różnych pąków
Usuwanie pędów bocznych (pasynkowanie)	chemiczne: jednorazowe zastosowanie Stompu E330 (pendimetalina) w ilości 15 ml 1,5% roztworu preparatu na roślinę	1-3 dni po ogłowieniu
Zbiór liści	piętami w okresie oznak dojrzałości technicznej, jednorazowo po 4-5 liści (4 zbiory)	
Suszenie liści	automatyczna suszarnia typu bulk curing firmy Vento-bacco	

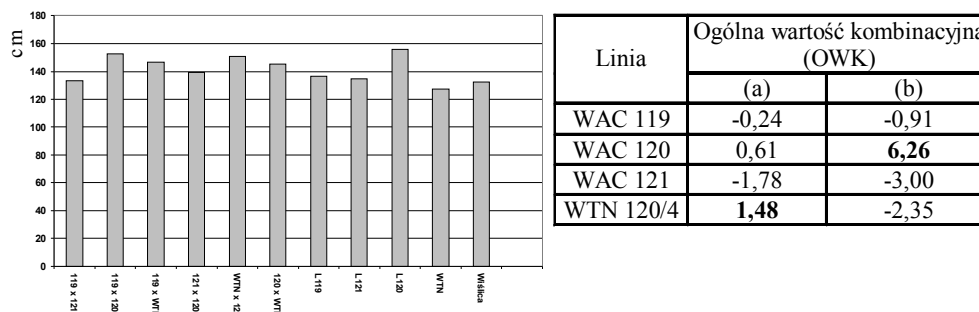
Źródło: Opracowanie własne.

pozwoił na wyznaczenie ogólnej (OWK) i swoistej (SWK) wartości kombinacyjnej badanych linii i mieszańców. Dla OWK podawano zwykle wartości bez określania różnic statystycznie istotnych. Statystyczną analizę dla OWK i SWK dotyczącą wielkości i wartości plonu oparto na klasycznej pracy *G r i f f i n g a* (6), a obliczeń dokonano stosując program opracowany przez dr Yasuo Ukai z University of Tokyo i udostępniony w internecie.

### Wyniki badań

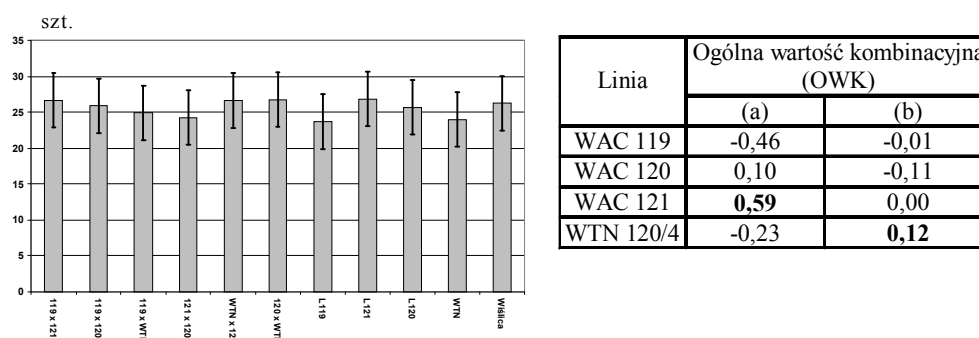
**Wysokość roślin** (rys. 1). Najwyższe rośliny zanotowano w obiektach WAC 120, F1 WAC 119 x WAC 120 i WTN 120/4 x WAC 121. Nie udowodniono statystycznych różnic między obiektami z uwagi na duże różnice pomiędzy blokami doświadczenia. Linia WAC 120 charakteryzowała się największą wartością OWK dla tej cechy.

**Liczba liści** (rys. 2). Średnia liczba liści zbliżała się do wartości 27 u 4 linii i mieszańców (WAC 119 x WAC 121, WTN 120/4 x WAC 121, WAC 120 x WTN 120/4, WAC 121) i była większa niż odpowiednia wartość dla odmiany Wiślica. Najmniej liści miała linia WAC 119. W przypadku analizy układu diallelicznego uwzględniającego rodziców linia WAC 121 wykazywała najwyższą wartość OWK dla tej cechy. Nato-



Rys. 1. Wysokość roślin (cm) mieszańców  $F_1$  i ich rodziców odpornych na *Chalara elegans* oraz wzorcowej odmiany Wiślica; w zestawieniu na prawo: ogólna wartość kombinacyjna (OWK) linii rodzicielskich: a) w układzie półdialelicznym uwzględniającym linie rodzicielskie, b) bez uwzględnienia rodziców

Źródło: Opracowanie własne.

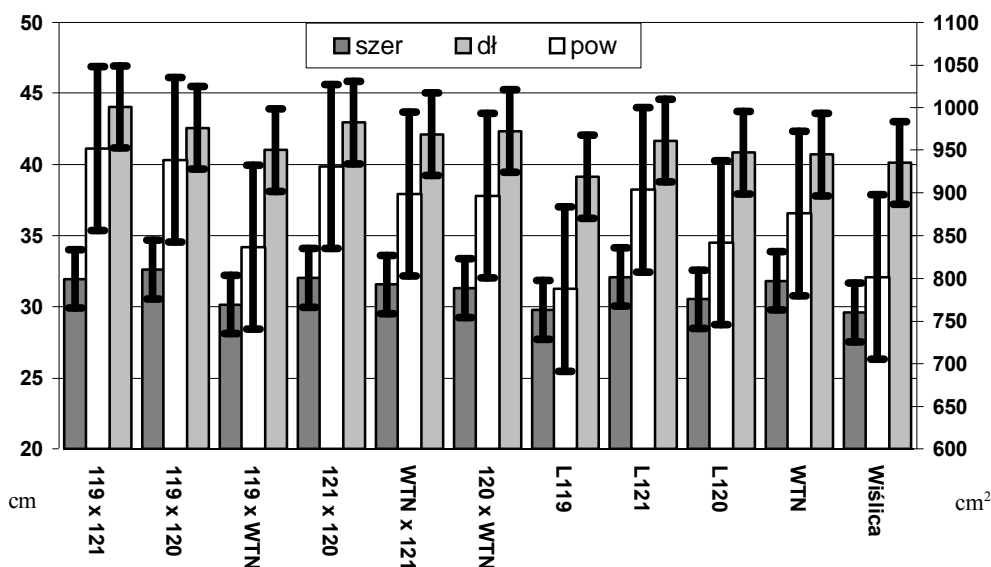


Rys. 2. Liczba liści mieszańców  $F_1$  i ich rodziców odpornych na *Chalara elegans* oraz wzorcowej odmiany Wiślica; linia na słupku każdej z odmian przedstawia wartość HSD Tukey'a; w zestawieniu na prawo: ogólna wartość kombinacyjna (OWK) linii rodzicielskich: a) w układzie półdialelicznym uwzględniającym linie rodzicielskie, b) bez uwzględnienia rodziców

Źródło: Opracowanie własne.

miast bez uwzględnienia rodziców najwyższą wartość OWK stwierdzono u linii WTN 120/4.

**Wymiary i powierzchnia liści** (rys. 3-5). Bez względu na piętro zbioru najdłuższe liście notowano u mieszańca WAC 119 x WAC 121. Z wyjątkiem linii WAC 119 wszystkie badane w doświadczeniu obiekty miały dłuższe liście niż odmiana Wiślica. Różnice w szerokości liści były nieduże dla wszystkich pięter zbioru, największe liście generalnie stwierdzano u linii WAC 119. Pod względem powierzchni największe liście stwierdzono u mieszańca WAC 119 x WAC 121 (nadspodakowe), mieszańców WAC 119 x WAC 121, WAC 121 x WTN 120/4, WTN 120/4 x WAC 121 oraz WAC 121 (środkowe) i mieszańców WAC 119 x WAC 121, WAC 119 x WAC 120 oraz WAC 121 x WAC 120 (podwierzchołkowe). Z analizy OWK wynika, że ogólnie najwyższą wartością kombinacyjną dla wielkości liści odznaczał się mieszaniec WAC 121, szczególnie w przypadku liści nadspodaków i środkowych (tab. 3-5).



Rys. 3. Wymiary liści nadspodakowych (długość i szerokość (cm) – skala na lewej osi wykresu, powierzchnia (cm<sup>2</sup>) – skala na osi prawej) mieszańców F<sub>1</sub> i ich rodziców odpornych na *Chalara elegans* oraz wzorcowej odmiany Wiślica; linia na słupku przedstawia wartość HSD Tukey'a  
Źródło: Opracowanie własne.

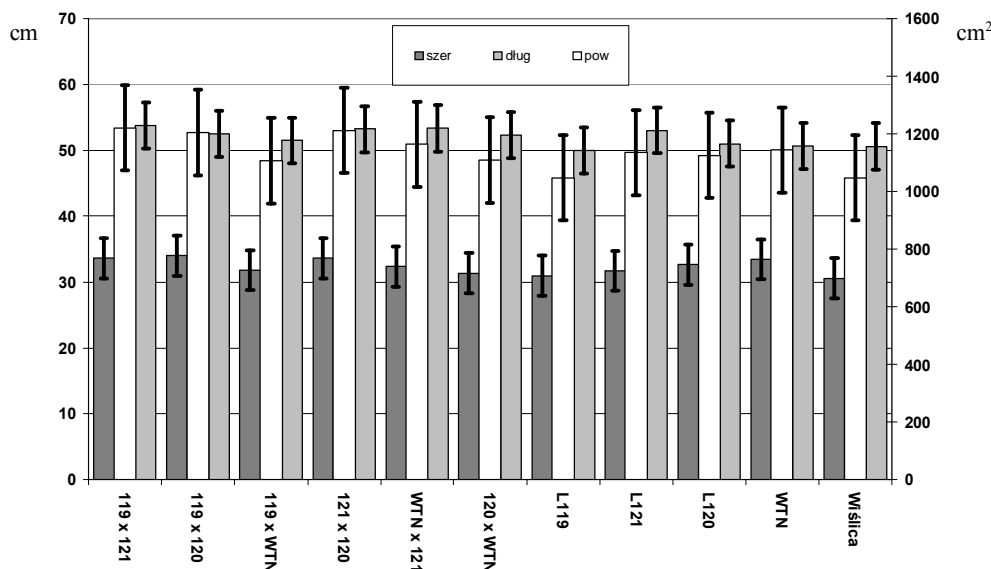
Tabela 3

Wymiary liści nadspodakowych, ogólna wartość kombinacyjna (OWK) linii rodzicielskich:  
a) w układzie półdiallelicznym uwzględniającym linie rodzicielskie, b) bez uwzględnienia rodziców

Linia	Ogólna wartość kombinacyjna (OWK)					
	(a)		(b)		(a)	
	długość (cm)		szerokość (cm)		powierzchnia (cm <sup>2</sup> )	
WAC 119	-0,46	0,02	-0,44	-0,01	-21,43	0,10
WAC 120	0,14	0,06	0,01	<b>0,19</b>	3,06	6,55
WAC 121	<b>0,63</b>	0,26	<b>0,46</b>	0,12	<b>26,27</b>	<b>9,13</b>
WTN 120/4	-0,30	<b>0,34</b>	-0,04	-0,30	-7,90	-15,78

Źródło: Opracowanie własne.

**Liczba dni do kwitnienia** (rys. 6). Rośliny linii WAC 119 x WAC 121 miały najdłuższy okres od posadzenia do kwitnienia. Tym niemniej, jedna z linii rodzicielskich tego mieszańca – WAC 119 – była najwcześniej zakwitającą odmianą w doświadczeniu. Dwie inne linie – WAC 120 i WTN 120/4 – również charakteryzowały się wczesnym zakwitaniem (małą liczbą dni do początku kwitnienia). Dla linii WAC 119 obliczono najwyższą wartość OWK, co wskazuje, że jakkolwiek sama zakwitwała wcześniej, to w mieszańcach wykazywała tendencję do nadawania cechy późnego zakwitania.



Rys. 4. Wymiary liści środkowych (długość i szerokość (cm) – skala na lewej osi wykresu, powierzchnia (cm<sup>2</sup>) – skala na osi prawej) mieszańców F<sub>1</sub> i ich rodziców odpornych na *Chalara elegans* oraz wzorcowej odmiany Wiślica; linia na słupku przedstawia wartość HSD Tukey’*a*  
Źródło: Opracowanie własne.

Tabela 4

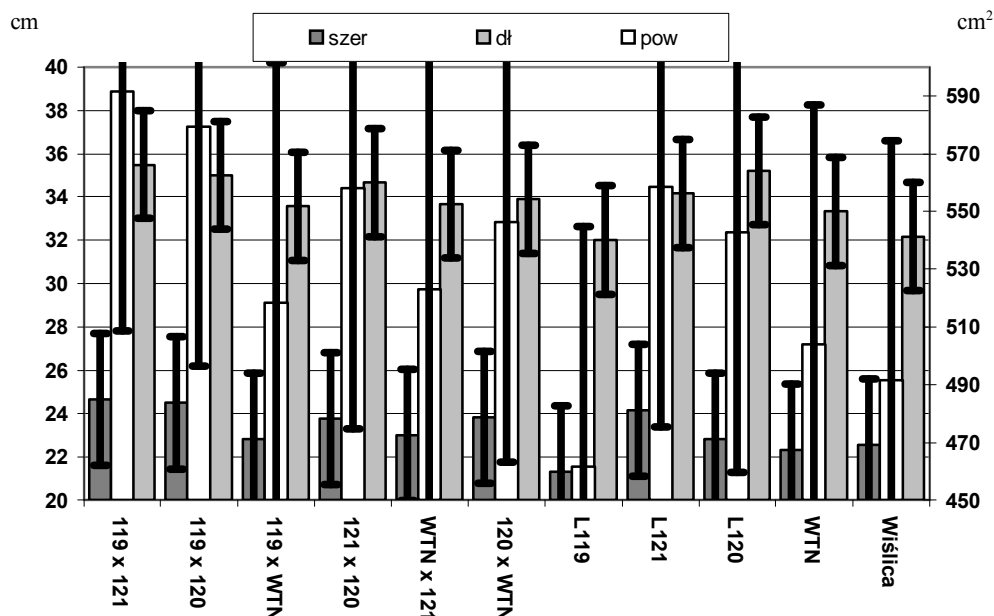
Wymiary liści środkowych, ogólna wartość kombinacyjna (OWK) linii rodzicielskich: a) w układzie półdallelicznym uwzględniającym linie rodzicielskie, b) bez uwzględnienia rodziców

Linia	Ogólna wartość kombinacyjna (OWK)					
	(a)		(b)		(a)	
	długość (cm)		szerokość (cm)		powierzchnia (cm <sup>2</sup> )	
WAC 119	-0,49	-0,09	-0,22	0,18	-17,93	3,99
WAC 120	-0,11	-0,04	<b>0,26</b>	0,10	6,82	2,94
WAC 121	<b>0,96</b>	<b>0,33</b>	0,03	<b>0,21</b>	<b>22,03</b>	<b>14,63</b>
WTN 120/4	-,037	-0,19	0,06	-0,48	-10,92	-21,56

Źródło: Opracowanie własne.

### Plon i wartość plonu

**Plon** (rys. 7). Obiekty WAC 119 x WAC 121, WAC 119 x WAC 120 i WAC 120 x WTN 120/4 najlepiej plonowały w doświadczeniu i przewyższyły pod tym względem odmianę Wiślica. Najmniejsze plony liści zanotowano w przypadku linii WAC 119 i WAC 119 x WTN 120/4. W analizie OWK, z pominięciem odmian rodzicielskich, najwyższą wartość kombinacyjną spośród badanych 4 linii wykazała linia WAC 119. Różnica na korzyść tej linii nie znalazła jednak potwierdzenia statystycznego. Stwierdzono natomiast występowanie takich różnic w przypadku swoistej wartości kombinacyjnej. Najwyższą wartością SWK dla plonu odznaczał się mieszaniec WAC 119 x WAC 121.



Rys. 5. Wymiary liści podwierzchołkowych (długość i szerokość (cm) – skala na lewej osi wykresu, powierzchnia (cm<sup>2</sup>) – skala na osi prawej) mieszańców F<sub>1</sub> i ich rodziców odpornych na *Chalara elegans* oraz wzorcowej odmiany Wiślica; linia na słupku przedstawia wartość HSD Tukey'a  
Źródło: Opracowanie własne.

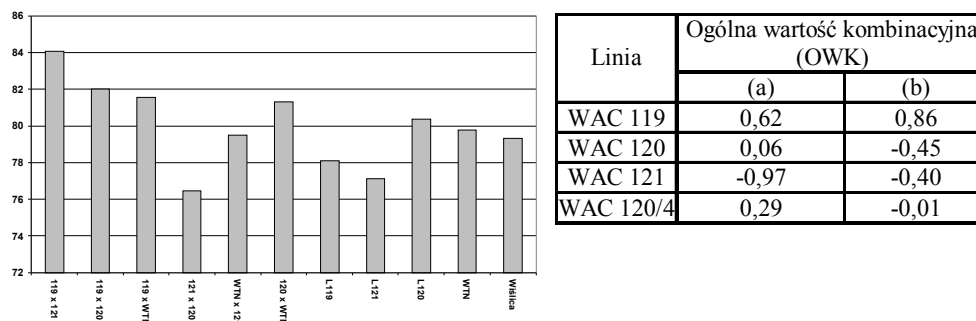
Tabela 5

Wymiary liści podwierzchołkowych, ogólna wartość kombinacyjna (OWK) linii rodzicielskich: a) w układzie półdialelicznym uwzględniającym linie rodzicielskie, b) bez uwzględnienia rodziców

Linia	Ogólna wartość kombinacyjna (OWK)					
	(a)		(b)		(a)	
	długość (cm)		szerokość (cm)		powierzchnia (cm <sup>2</sup> )	
WAC 119	-0,41	<b>0,15</b>	-0,33	0,12	-13,13	<b>5,20</b>
WAC 120	<b>0,58</b>	0,07	0,19	<b>0,13</b>	12,92	4,23
WAC 121	0,28	0,11	<b>0,52</b>	0,02	<b>16,26</b>	2,34
WTN 120/4	-0,45	-0,34	-0,38	-0,27	-16,05	-11,78

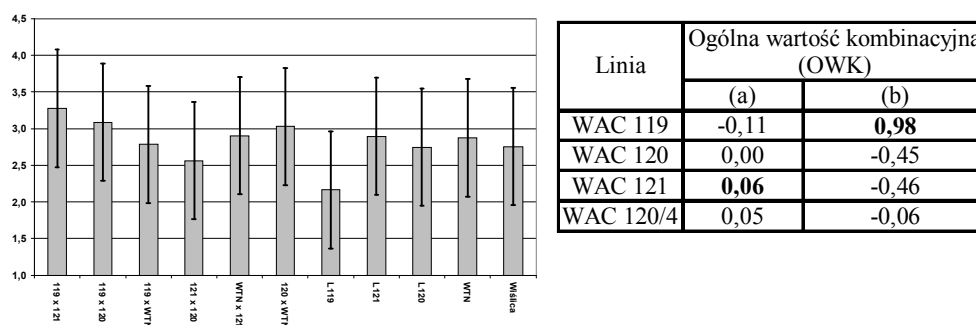
Źródło: Opracowanie własne.

**Wartość plonu z 1 ha uprawy** (rys. 8). Układ wartości tego parametru ogólnie pokrywał się z odpowiednimi wynikami dla wielkości plonu liści badanych obiektów, z takim zastrzeżeniem, że różnice między obiektami o najwyższej obserwowanej wartości plonu (WAC 119 x WAC 121, WAC 119 x WAC 120 i WAC 120 x WTN 120/4 i WTN 120/4 x WAC 121) były minimalne. Wynika to z faktu, że dopłata do 1 kg plonu stanowiła główny komponent obliczonego dochodu z 1 ha. Najwyższą ogólną wartość kombinacyjną wykazała linia WAC 119, natomiast dla mieszańców WAC 120 x WTN 120/4 oraz WAC 119 x WAC 121 obliczono najwyższe wartości swoistej wartości kombinacyjnej.



Rys. 6. Liczba dni od wysadzenia w polu do kwitnienia mieszańców  $F_1$  i ich rodziców odpornych na *Chalara elegans* oraz wzorcowej odmiany Wiślica; w zestawieniu na prawo: ogólna wartość kombinacyjna (OWK) linii rodzicielskich: a) w układzie półdialelicznym uwzględniającym linie rodzicielskie, b) bez uwzględnienia rodziców

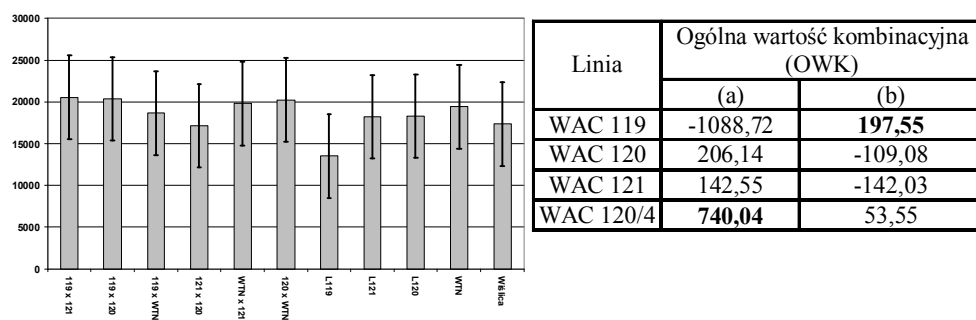
Źródło: Opracowanie własne.



Rys. 7. Plon wysuszonych liści ( $t \cdot ha^{-1}$ ) mieszańców  $F_1$  i ich rodziców odpornych na *Chalara elegans* oraz wzorcowej odmiany Wiślica linia na słupku każdej z odmian przedstawia wartość HSD Tukey'a; w zestawieniu na prawo: ogólna wartość kombinacyjna (OWK) linii rodzicielskich:

a) w układzie półdialelicznym uwzględniającym linie rodzicielskie, b) bez uwzględnienia rodziców

Źródło: Opracowanie własne.



Rys. 8. Wartość plonu wysuszonych liści ( $zł \cdot ha^{-1}$ ) mieszańców  $F_1$  i ich rodziców odpornych na *Chalara elegans* oraz wzorcowej odmiany Wiślica; linia na słupku każdej z odmian przedstawia wartość HSD Tukey'a; w zestawieniu na prawo: ogólna wartość kombinacyjna (OWK) linii rodzicielskich: a) w układzie półdialelicznym uwzględniającym linie rodzicielskie, b) bez uwzględnienia rodziców

Źródło: Opracowanie własne.



### Zależności dominacji dla wybranych cech

W przypadku cech badanych w doświadczeniu dla kilku kombinacji mieszańcowych stwierdzano wartości wyższe niż średnia dla obu form rodzicielskich (tab. 6). W szczególności mieszańce WAC 119 x WAC 121 i WAC 119 x WAC 120 wyróżniały się tym, że przewyższały formy rodzicielskie liczbą liści i ich powierzchnią, wysokością i wartością plonu z jednostki powierzchni, ale także liczbą dni od posadzenia do kwitnienia.

Tabela 6

Odchylenia od średniej wartości dla obu rodziców (dev MP) i wartości dla lepszego z rodziców (>HP) dla wybranych cech mieszańców F<sub>1</sub> tytoniu Virginia odpornych na *Chalara elegans*

Mieszańiec	Wysokość roślin (cm)		Liczba liści		Liczba dni od posadzenia do kwitnienia		Plon wysuszonych liści (t · ha <sup>-1</sup> )		Wartość plonu (zł · ha <sup>-1</sup> )		Powierzchnia liści (cm <sup>2</sup> )	
	dev MP	>HP	dev MP	>HP	dev MP	>HP	dev MP	>HP	dev MP	>HP	dev MP	>HP
F1 WAC119 x WAC 121	-2,4		1,4		6,5	++	0,748	++	4694	++	129,4	++
F1 WAC119 x WAC 120	6,8		1,2	+	2,8	++	0,632	++	4425	++	119,2	++
F1 WAC119 x WTN 120/4	14,6	++	1,1	+	2,6	++	0,263		2187		10,2	
F1 WAC121 x WAC 120	-5,8		-2,0		-2,3		-0,258		-1119		81,7	++
F1 WTN120/4 x WAC 121	19,6	++	1,2		1,1		0,019	++	981	++	23,5	++
F1 WAC1120 x WTN 120/4	4,1		1,9	+	1,2	++	0,220	++	1355	++	-25,9	

\* + – wartość dla mieszańca przewyższa wartość dla lepszego z rodziców, w pozostałych przypadkach pozostawiono pustą komórkę

Źródło: Opracowanie własne.

### Dyskusja

Nowe mieszańce tytoniu typu Virginia odporne na czarną zgniliznę korzeni zostały bardzo dobrze przyjęte przez polskich plantatorów (1). Ze względu na ich podobieństwo do odmiany Wiślica, najważniejszej i ogólnie uznanej odmiany w tym typie tytoniu, nowe mieszańce z powodzeniem zastępują Wiślicę w wielu rejonach, gdzie problem czarnej zgnilizny tytoniu drastycznie zredukował opłacalność uprawy tej odmiany. W nowych mieszańcach wykorzystywane są linie WAC 119, WAC 120 i WAC 121 jako odporne linie rodzicielskie w mieszańcach F<sub>1</sub> z Wiślicą (3). Uzyskane w ten sposób trzy odporne mieszańce wyraźnie różnią się pod względem wartości uprawowej, w zależności od użytej linii odpornej (3). W tej pracy dokonano próby określenia

potencjalnej wartości uzyskanych linii odpornych jako odmian uprawnych samych w sobie i jako form rodzicielskich do uzyskania odmian mieszańcowych na drodze wzajemnego krzyżowania.

Głównym problemem była duża zmienność międzyblokowa, co przyczyniło się do powstania dużych wartości błędów eksperymentalnego i w rezultacie do uzyskania niewielu różnic statystycznie istotnych. Z drugiej strony, nie należało oczekiwać dużych różnic z uwagi na to, że obiekty doświadczalne uwzględnione w badaniach były bardzo zbliżone pod względem pochodzenia i genotypu. Tym niemniej, można było wyróżnić pewne tendencje, a analiza danych dostarczyła ciekawych obserwacji.

W pracach nad wartością kombinacyjną odmian i linii hodowlanych tytoniu zwykle badano odmiany o zróżnicowanym pochodzeniu (4, 5, 7). W tej pracy badane linie były bardzo zbliżone genetycznie i morfologicznie do odmiany Wiślica. W warunkach polowych każdą z tych linii bardzo łatwo pomylić z Wiślicą.

W warunkach uprawy, gdzie presja czynnika chorobotwórczego w postaci grzyba *Chalara elegans* była niska lub praktycznie nie występowała badane linie i mieszańce z reguły przewyższały Wiślicę pod względem takich parametrów wzrostu, jak wysokość roślin, czy wielkość liści – innymi słowy wykazywały wyższy stopień bujności wegetatywnej. Wyjątkiem była linia WAC 119, która również dała najmniejszy plon z jednostki powierzchni i najmniejszą wartość tego plonu. W innych badaniach przeprowadzonych na glebie zainfekowanej przez *Chalara elegans* wszystkie formy odporne zdecydowanie przewyższały odmianę Wiślica pod względem osiągniętej wielkości plonu (3).

Linie i mieszańce, które wydały największy plon liści jednocześnie potrzebowały najdłuższego okresu do osiągnięcia fazy kwitnienia i *vice versa*. Wydaje się, że większe plony były dość silnie powiązane z wolniejszym tempem wzrostu i rozwoju roślin.

Badane mieszańce miały tendencję do wydawania większych plonów niż linie ustalone. W kilku przypadkach wartość danej cechy dla mieszańca była wyższa niż dla lepszej formy rodzicielskiej. B i l l e n k a m p (4) w swoich badaniach mieszańców tytoniu Virginia wykazał, że heterozja wystąpiła w kilku przypadkach, chociaż ogólnie jej efekt był mały.

Wyniki uzyskane w tej pracy wskazują, że dla uzyskania poprawy wartości użytkowej odmian tytoniu typu Virginia warto jest próbować różnych kombinacji mieszańcowych, nawet jeżeli formy rodzicielskie reprezentują zbliżone genotypy.

## Wnioski

- Większość nowych kombinacji mieszańcowych i linii hodowlanych tytoniu typu Virginia odpornych na czarną zgniliznę tytoniu przewyższała pod względem cech wzrostu i rozwoju powszechnie uprawianą odmianę Wiślica. Wielkości i różnice wartości poszczególnych cech wskazywały zwykle na wyższość nowych linii i mieszańców w porównaniu z Wiślicą, ale różnice najczęściej nie dały się udowodnić statystycznie.

2. Mieszańce WAC 119 x WAC 121 i WAC 119 x WAC 120 dały największy plon liści i największą wartość plonu z jednostki powierzchni. Linia WAC 119 plonowała najgorzej i również przyniosła najmniejszy dochód z powierzchni uprawy.

3. Linia WAC 119 wykazała najniższą wartość użytkową jako odmiana, ale jako komponent mieszańcowy charakteryzowała się najlepszą wartością kombinacyjną, w szczególności pod względem wielkości i wartości plonu z jednostki powierzchni.

4. Większe plony uzyskane w najlepszych kombinacjach mieszańcowych związane były z wolniejszym tempem wzrostu i rozwoju roślin.

5. Wyniki uzyskane w pracy wskazują na celowość wykorzystywania hodowli mieszańcowej w ulepszaniu odmian tytoniu typu Virginia.

### Literatura

1. B e r b e ć A.: Postęp biologiczny w hodowli tytoniu w Polsce. *Wiś Jutra*, 2007, **7**: 33-34.
2. B e r b e ć A.: Uprawa odmian tytoniu Virginia odpornych na czarną zgniliznę korzeni. Instrukcja upowszechn., IUNG-PIB Puławy, 2007, **136**.
3. B e r b e ć A.: Field performance of Poland's new flue-cured tobacco varieties resistant to *Chalara elegans*. CORESTA Congress, Paris 15-20 Oct., 2006, AP 22.
4. B i l l e n c a m p N.: Estimation of quantitative genetic parameters in breeding populations of flue-cured tobacco. CORESTA Meeting, Montreux, 1997, AP 16.
5. C h e n S., W u S., N i J.: Combing ability of major quantitative characters in flue-cured tobacco. *Acta Tabac. Sinica*, 2004, **10(3)**: 25-28.
6. G r i f f i n g B.: A generalized treatment of the use of diallel crosses in quantitative inheritance. *Heredity*, 1956, **10**: 31-50.
7. W i l k i n s o n C. A., J o n e s J. L., T i l s o n W. M.: Diallel analysis of crosses among Virginia Flue-cured tobacco. *Tob. Rptr*, 1994, **121(3)**: 53-56.

Adres do korespondencji:

*prof. dr hab. Apoloniusz Berbec*  
*Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin*  
*IUNG-PIB*  
*ul. Czartoryskich 8*  
*24-100 Puławy*  
*tel. 081 886 34 21 w. 221*  
*e-mail: [berbec@iung.pulawy.pl](mailto:berbec@iung.pulawy.pl)*



**Anna Trojak-Goluch**

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy  
w Puławach*

## AKTUALNE I POTENCJALNE MOŻLIWOŚCI UPRAWY TYTONIU W WARUNKACH WYSTĘPOWANIA CZARNEJ ZGNILIZNY KORZENI\*

### Wstęp

Uprawa tytoniu w Polsce stanowi w kilku rejonach bardzo ważną gałąź produkcji roślinnej, zapewniając dochodowość nawet małym gospodarstwom ze słabszymi glebami. Wynika to przede wszystkim z tego, że dochód uzyskiwany z uprawy tytoniu w przeliczeniu na 1 ha jest wielokrotnie wyższy niż z innych upraw. Tytoń jasny typu Virginia, uprawiany na glebach słabych, daje przychody ponad pięciokrotnie większe niż żyto. Natomiast uprawa tytoni typu Burley, wymagających gleb średnio żyznych, jest ponad dwa razy bardziej opłacalna niż jęczmienia i rzepaku. Tytoń ciemny typu Mocny Skroniowski, uprawiany na dobrych glebach, daje przychody prawie trzy razy większe niż pszenica (11). Polska należy do czołówki krajów europejskich pod względem obszaru zajmowanego pod uprawę tytoniu. Poziom rocznej produkcji surowca tytoniowego wynosi aktualnie około 41 tys. ton (18), a w kolejnych latach 2008–2012 przewiduje się utrzymanie produkcji surowca tytoniowego na zbliżonym poziomie. Jednym z najważniejszych czynników wpływających na efektywność ekonomiczną produkcji surowca tytoniowego jest czarna zgnilizna korzeni wywołwana przez patogen glebowy *Chalara elegans* (N a g R a j i K e n d r i c k). Czarna zgnilizna korzeni spotykana jest we wszystkich krajach, w których uprawiany jest tytoń. W Ameryce, Afryce i krajach południowej Europy jest to głównie choroba tytoniu w inspektach i rozsadnikach (19), podczas gdy w Polsce i innych krajach o klimacie umiarkowanym wyrządza duże szkody zarówno w inspektach, jak i na plantacjach (6). W warunkach Polski znaczna część stanowisk (być może większość), na których uprawiany jest tytoń jest zainfekowana grzybem czarnej zgnilizny korzeni, a straty w plonach liści wywołane chorobą mogą wynosić nawet 50%.

Do niedawna w Polsce w typie tytoniu Virginia uprawiano odmiany o mniejszym lub większym stopniu podatności na czarną zgniliznę korzeni. Począwszy od 2005 roku IUNG-PIB w Puławach wprowadza nowe odmiany mieszańcowe tytoniu Virginia o nazwach VRG1, VRG2 i VRG3. Odmiany te zostały wyhodowane w oparciu

---

\* Opracowanie wykonano w ramach zadania 2.7 w programie wieloletnim IUNG - PIB

o powszechnie uprawianą odmianę Wiślica, jednak w odróżnieniu od niej są odporne na czarną zgniliznę korzeni (3). Wyniki badań polowych oraz opinie plantatorów tytoniu z wielu regionów w kraju świadczą o tym, że wymienione odmiany można z powodzeniem uprawiać nawet w stanowiskach, na których w poprzednich latach choroba występowała w dużym nasileniu.

### Objawy chorobowe spowodowane przez czarną zgniliznę korzeni

Czarna zgnilizna korzeni atakuje system korzeniowy roślin. Najpierw infekcji ulegają włośniki, później większe korzenie, a następnie cały system korzeniowy. W efekcie korzenie przyjmują ciemnobrunatne zabarwienie. Rośliny bronią się przed chorobą wytwarzając dużo nowych korzeni przybyszowych, które stopniowo także ulegają porażeniu (13). Zewnętrznymi objawami porażenia przez *Chalara elegans* są przedwczesne żółknięcie liści i ich więdnienie. Mocno zainfekowane rośliny odznaczają się silnie zahamowanym wzrostem i rozwojem. Obserwacje cech morfologicznych tytoniu typu Virginia rosnącego na polu o umiarkowanym nasileniu choroby wykazały, że mało podatne odmiany osiągnęły wysokość 150 cm, średnio podatne 121 cm, podczas gdy wysoce podatne zaledwie 42 cm (tab. 1); (4). W badaniach wykazano również znaczną redukcję masy korzeni w zależności od stopnia podatności odmiany. Odmiany silnie podatne miały ponad 10-krotnie mniejszą masę korzeni w stosunku do odmian mało wrażliwych. Podobny wpływ porażenia czarną zgnilizną na spadek masy korzeni odmian w typie Burley wykazał wcześniej W i l k i n s o n i in. (27).

### Charakterystyka sprawcy choroby

Sprawcą czarnej zgnilizny korzeni jest grzyb *Chalara elegans* (syn. *Thielaviopsis basicola* Ferr.) należący do podgromady *Deuteromycotina* (grzyby niedoskona-

Tabela 1

Wysokość roślin i świeża masa korzeni odmian tytoniu Virginia rosnących w warunkach naturalnej infekcji polowej

Lp.	Odmiana	Reakcja na <i>Ch. elegans</i>	Wysokość roślin (cm)	Świeża masa korzeni (g/roślinę)
1.	VSCR	podatna	42	2,5
2.	TB-570	podatna	65	3,1
3.	Wiślica	podatna	86	6,2
4.	H9	podatna	92	6,2
5.	Wilja	podatna	96	7,9
6.	VJ1	średnio podatna	121	16,0
7.	PTU	średnio podatna	129	22,4
8.	VJ17	mało podatna	150	39,3
	NIR 0,05	-	30,3	14,1

Źródło: Berbeć A. i Trojak-Goluch A., 2001 (4).

łe), klasy *Hyphomycetes* (strzępczaki), rzędu *Moniliales*. Po raz pierwszy zarodniki przetrwalnikowe tego patogenu u podstawy łodyg grochu wykryli w 1850 r. B e r k e l e y i B r o o m e, a nazwę gatunkową *Thielaviopsis basicola* wprowadził w 1925 r. F e r r a r i s. W 1975 r. N a g R a j i K e n d r i c k zaproponowali zmianę nazwy gatunku *Thielaviopsis basicola* na *Chalara elegans* (19). Obecnie obie nazwy są używane jako synonimy.

*Chalara elegans* należy do właściwych patogenów glebowych (7, 29). Tworzy wielokomórkową, bezbarwną, jasnoszarą lub brunatną grzybnię, na której rozwijają się dwa typy zarodników: endokonidia i chlamydozory. Letnie zarodniki endokonidialne są wydłużone, walcowate i bezbarwne. Rozwijające się z nich strzępki grzybni wnikają najczęściej przez pęknięcia powstające przy wyrastaniu korzeni bocznych lub bezpośrednio do włóśników i drobnych korzeni (9). Zarodniki przetrwalnikowe, chlamydozory, produkowane w formie łańcuszków na końcach krótkich strzępek bocznych są ciemne i grubościennie. Chlamydozory są odporne na niekorzystne warunki panujące w glebie, jak np.: susza, wysoka temperatura, a swoją żywotność mogą utrzymywać przez dziesięć lat. Wieloletnie badania nad morfologią kolonii oraz zarodników przetrwalnikowych *Ch. elegans* na podłożach stałych wykazały istnienie wielu ras grzyba rozwijających się na tytoniu, różniących się pod względem morfologicznym, fizjologicznym i biologicznym. L u c a s (13) donosi o istnieniu typów: szarego i brunatnego odznaczających się odmienną patogennością, strukturą oraz barwą w czystych kulturach. Według P u n j a i S u n (16) na podstawie pigmentacji powierzchni kolonii większość ras *Ch. elegans* można podzielić na cztery grupy. Do pierwszej grupy należą rasy, których grzybnia w czystych kulturach ma wyraźnie nieregularne obrzeża i jest zabarwiona na ciemnobrunatny kolor. Rasy należące do II grupy tworzą grzybnię koloru szarooliwkowego z regularnym obrzeżem. Rasy charakteryzujące się wolno rosnącą grzybnią i posiadające jasnobrunatne zabarwienie kolonii tworzą trzecią grupę. Ostatnią grupę stanowią rasy o białych bądź albinotycznych koloniach.

Patogen *Ch. elegans* ma szerokie spektrum żywicieli. Zasiedla system korzeniowy ponad stu trzydziestu gatunków roślin z różnych grup systematycznych, w tym około 28 gatunków z rodziny *Fabaceae*, 20 gatunków z rodziny *Solanaceae*, 7 gatunków z rodziny *Cucurbitaceae* (7, 13). Do ważniejszych gospodarczo roślin infekowanych przez *Ch. elegans* należą: tytoń (5), kawa, bawełna (28), marchew (16), łubin, koniczyna, rośliny kapustne i wiele krzewów ozdobnych.

### Warunki sprzyjające rozwojowi choroby

Rozwój i nasilenie choroby wywołanej przez *Ch. elegans* zależą od stopnia podatności żywiciela, warunków środowiska i zdolności pasożytniczych patogenu (21, 22). Największe znaczenie dla przebiegu infekcji mają czynniki środowiskowe (abiotyczne): temperatura, wilgotność i odczyn gleby (19). Stwierdzono, że czarna zgnilizna korzeni najintensywniej rozwija się w temperaturze 17-23°C przy znacznych waha-

niach wilgotności gleby. Tego typu warunki panują szczególnie wiosną w naprzemiennie występujących okresach suszy i wysokiej temperatury powietrza z okresami chłodu i intensywnych opadów. Charakterystyczne jest, że jeśli temperatura gleby wynosi powyżej 26°C to uszkodzenia korzeni są praktycznie znikome. W warunkach uprawy polowej nasileniu choroby sprzyja również niska zawartość wymiennego glinu (14) oraz zasadowy odczyn gleby pH >6,4 (20), a zatem wapnowanie gleby lub nawożenie nawozami z dodatkiem wapnia zwiększają nasilenie objawów chorobowych. Dodatkowym elementem mogą być nieodpowiednie właściwości fizyczne gleby. Gleby podmokłe, wolno nagrzewające się, z tendencją do zaskorupiania się w okresie letnim sprzyjają namnażaniu się *Ch. elegans* (7). Kolejną przyczyną wzrostu potencjału infekcyjnego w glebie może być zbyt mała powierzchnia gruntów ornych w gospodarstwach i związana z tym uprawa tytoniu w monokulturze (17, 24). Ponadto w warunkach naszego kraju nie powinno się uprawiać tytoniu po roślinach motylkowatych stymulujących rozwój *Ch. elegans* w glebie.

### Znaczenie gospodarcze czarnej zgnilizny korzeni

Szkody wynikające z występowania czarnej zgnilizny korzeni polegają na znacznym zmniejszeniu plonu oraz na obniżeniu jakości surowca tytoniowego. Zmniejszenie plonu jest spowodowane przede wszystkim wyraźnie słabszym wzrostem roślin i zredukowaną powierzchnią liści. W efekcie zniszczenia systemu korzeniowego dochodzi zazwyczaj do zakłócenia pobierania wody i składników pokarmowych z gleby, a w konsekwencji wiązania i odkładania substancji zapasowych w liściach, przez co liście stają się mało treściwe (lekkie). Poziom redukcji plonu roślin jest uzależniony od stopnia podatności odmiany tytoniu. Według H a j i i B r a n d l e (8) oraz S h e w i S h o e m a k e r (21) w sprzyjających dla rozwoju patogenu warunkach straty w plonach, zależnie od typu tytoniu i odmiany, mogą wynosić 10-50% (tab. 2).

Drugim negatywnym efektem występowania czarnej zgnilizny korzeni jest obniżenie jakości liści. Rośliny na zaatakowanej plantacji rosną nierówno, nierównomiernie

Tabela 2

Plon liści odmian tytoniu charakteryzujących się różnym stopniem wrażliwości na czarną zgniliznę korzeni

Lp.	Odmiana	Typ tytoniu	Poziom odporności	Plon liści (kg · ha <sup>-1</sup> )		
				średnia koncentracja <i>Ch. elegans</i>	brak <i>Ch. elegans</i>	wzrost plonu (%)
1.	Delgold	Virginia	średnio podatna	2452	2720	9,9
2.	AC Gayed	Virginia	odporna	2983	3036	1,7
3.	Judy's Pride	Burley	podatna	632	1262	49,9
4.	Burley 21	Burley	średnio podatna	2654	3530	24,8
5.	Ky 14	Burley	średnio podatna	2992	3537	15,4
6.	TN 86	Burley	odporna	3767	3832	1,7

Źródło: Haji H. i Brandle J., 2001 (8), Shew H. i Shoemaker P., 1993 (21).



też dojrzewają, a zatem liście zbierane są w różnych stadiach dojrzałości, na skutek czego uzyskiwany jest małowartościowy surowiec kwalifikowany do niskich klas wykupowych. Ponadto w liściach zebranych z chorych roślin zakłócony jest właściwy stosunek cukrów redukcyjnych do białek prostych oraz zmniejszona zawartość nikotyny (2).

### Ochrona tytoniu przed czarną zgnilizną korzeni

Chemiczna ochrona tytoniu przed *Chalara elegans* jest skuteczna tylko w okresie produkcji rozsady. Odkażanie podłoża wzrostowego roślin można przeprowadzić z wykorzystaniem środka Basamid granulaty w dawce  $250 \text{ g} \cdot 1 \text{ m}^3$  substratu torfowego. Preparat fungicydowy należy wymieszać z torfem, a uformowaną pryzmę szczelnie przykryć folią. Zabieg odkażania zaleca się przeprowadzać w temperaturze powyżej  $15^\circ\text{C}$  przez pięć do dziesięciu dni. Kolejna metoda polega na dwukrotnym podlaniu podłoża wzrostowego roztworem preparatu fungicydowego Trifmine 30 WP w stężeniu 0,05% bądź Topsin M 70 WP w stężeniu 0,05%. Pierwszy zabieg ochronny należy wykonać jeden dzień przed siewem nasion, natomiast drugi wtedy, gdy rośliny tytoniu wykształcą pierwszą parę liści. Zastosowanie powyżej opisanych metod podczas wzrostu roślin na polu wymaga dużych nakładów finansowych i jest praktycznie nieskuteczne. Jedynym efektywnym sposobem zwalczania patogenu w warunkach polowych jest zapobieganie jego występowaniu poprzez właściwe przygotowanie rozsady tytoniu, polegające na utrzymywaniu w czystości wszystkich urządzeń koniecznych przy produkcji rozsady i korzystaniu z jałowego substratu torfowego, stanowiącego podłoże wzrostu roślin oraz unikaniu uprawy roślin ozdobnych w pobliżu rozsady tytoniu. Nie jest wskazane również kompostowanie łodyg i korzeni tytoniu bądź innych roślin z objawami choroby w pobliżu inspektu. W przypadku nieprzestrzeżenia wymienionych zasad i silnego porażenia siewek w rozsadniku ginie ponad 90% roślin (23). Zainfekowana rozsada wysadzona na plantację powoduje zakażenie gleby i jest źródłem rozprzestrzeniania się choroby. Według B e r b e c i a (2) plon z plantacji obsadzonych zakażoną rozsadą bywa o 25-50% mniejszy od uzyskiwanego na plantacjach obsadzonych roślinami zdrowymi.

Wybór właściwej gleby pod uprawę tytoniu jest jednym z czynników zmniejszających straty spowodowane czarną zgnilizną korzeni. Istnieją gleby określane mianem „supresyjnych”, zasiedlonych przez mikroorganizmy saprofityczne, w tym bakterie z rodzaju *Pseudomonas* o działaniu antagonistycznym w stosunku do *Ch. elegans* (10). Oddziaływanie tych mikroorganizmów oparte jest na produkcji metabolitów wtórnych o działaniu fungistatycznym. Badania Y a r w o o d a i L e v k i n y (30) nad wpływem różnych przedplonów na stopień porażenia tytoniu czarną zgnilizną korzeni wykazały, że uprawa tytoniu w monokulturze przez kilka lat sprzyja nagromadzeniu się patogenu w glebie i prowadzi do silnego rozwoju choroby, natomiast przez zastosowanie odpowiedniego płodozmianu można znacznie zmniejszyć koncentrację zarodników w glebie. Najlepszymi przedplonami dla tytoniu są rośliny kłosowe (zboża) i kukurydza (17).

Po takich przedplonach tytoń daje większe plony o lepszym składzie chemicznym. Podstawowymi zabiegami agrotechnicznymi ograniczającymi negatywne skutki porażenia czarną zgnilizną korzeni są: odpowiednia uprawa mechaniczna gleby z głęboszowaniem i obredlaniem roślin. Dobrze wykonane uprawy w warstwie ornej, stanowiącej główny magazyn składników pokarmowych i wody, nadają glebie właściwą strukturę, co w połączeniu z odpowiednim nawożeniem stwarza najdogodniejsze warunki do przeciwstawiania się chorobie. Szczególnie dużą uwagę należy zwrócić na utrzymywanie właściwego pH gleby i na zabieg wapnowania. Wapno bowiem z jednej strony dodatnio wpływa na strukturę gleby, z drugiej zaś stwarza dogodne warunki dla rozwoju czarnej zgnilizny korzeni tytoniu. Zatem wapnowanie pola przeznaczonego pod tytoń należy wykonać w dawkach uwzględniających aktualny odczyn gleby.

### Źródła odporności na czarną zgniliznę korzeni

Najskuteczniejszą formą ochrony tytoniu przed czarną zgnilizną korzeni jest wprowadzenie do uprawy odmian odpornych. Jednym ze sposobów otrzymywania odporności jest hodowla oparta na krzyżowaniu międzyodmianowym wykorzystującym odporność znajdującą się w niektórych odmianach uprawnych tytoniu. Odporność zawarta w genomie tytoniu jest częściowa i charakteryzuje się poziomem od niskiego do umiarkowanego (27). Nie zapewnia ona pełnej odporności roślinom, szczególnie w warunkach dużej koncentracji patogenu w glebie, jak również w przypadku występowania różnych ras o zróżnicowanej patogeniczności. Niemniej jednak w oparciu o to źródło odporności zostało wyhodowanych w Stanach Zjednoczonych wiele odmian uprawnych tytoniu zarówno w typie Virginia (Harrow Velvet, Virginia Gold, Hicks Broadeaf, Yellow Special), jak i w typie Burley (KY 14, Burley 21), które są z powodzeniem uprawiane na tamtejszych polach (27). W warunkach Polski większość odmian pochodzenia amerykańskiego jest bardzo wrażliwa na *Ch. elegans* i ulega silnemu porażeniu.

Drugi sposób pozyskiwania odporności na czarną zgniliznę korzeni opiera się na krzyżowaniu międzygatunkowym, polegającym na wykorzystaniu naturalnych źródeł odporności pochodzących od dzikich gatunków tytoniu. Z uwagi jednak na duże trudności w krzyżowaniu odległych filogenetycznie gatunków, a także szkodliwe efekty wprowadzania całych chromosomów i grup sprzężeń (26), naturalny bank genów odporności został wykorzystany jedynie w znikomej części (12). Dotychczasowe badania nad ograniczeniem występowania *Ch. elegans* za pomocą metod genetyczno-hodowlanych, prowadzone m.in. we Francji, Niemczech, Kanadzie, Japonii i innych krajach, doprowadziły do uzyskania i praktycznego wykorzystania jednego źródła pełnej genetycznej odporności pochodzącej od dzikiego gatunku *Nicotiana debneyi* (1, 12, 27). Gen odporności pozyskany od *N. debneyi* warunkuje pełną odporność na różne rasy *Ch. elegans* u tytoniu uprawnego. W oparciu o to źródło odporności powstało wiele odmian uprawnych w typie Burley, takich jak: Burley 49, KY 17, TN 90 i TN 86, z których część świetnie zaadaptowała się do warunków klimatycznych panujących w Polsce. W obrębie tytoniu typu Virginia ten rodzaj odporności miał

ograniczone zastosowanie w hodowli z uwagi na negatywny wpływ czynnika odporności na fizyczne i chemiczne cechy tytoniu, takie jak: opóźnione dojrzewanie liści, mniejszy plon, większy udział liści gorszej jakości (15). Dzięki pracom hodowlanym prowadzonym nad przeniesieniem odporności z gatunku *N. debneyi* do genomu tytoniu uprawnego w latach 2000–2007 w IUNG-PIB Puławy udało się dokonać rozbicia negatywnych sprzężeń odporności typu *debneyi* i niekorzystnych cech agronomicznych. Wyhodowano nowe mieszańcowe odmiany tytoniu VRG1, VRG2 i VRG3 odporne na czarną zgniliznę korzeni, których pokrój ogólny, jak i kształt liści odzwierciedlają bliskie pokrewieństwo z podatną odmianą mateczną Wiślica. W warunkach zainfekowania gleby zarodnikami *Ch. elegans* wspomniane odmiany są zdecydowanie bujniejsze od roślin odmiany Wiślica, rosną i zakwitają szybciej, jak również znacznie lepiej plonują (tab. 3); (3). Obecnie mieszańce VRG1, VRG2 i VRG3 są zarejestrowane w księdze wyłącznego prawa i uprawiane na szeroką skalę przez polskich plantatorów.

Tabela 3

Wysokość roślin, liczba liści użytkowych, wczesność i plonowanie odmian VRG odpornych na czarną zgniliznę korzeni

Odmiana	Wysokość roślin (cm)	Liczba liści na roślinie	Liczba dni do kwitnienia	Plon liści (t · ha <sup>-1</sup> )	Wzrost plonu w stosunku do plonu odmiany Wiślica (%)
Wiślica	138	17	74	2,78	-
VRG1	157	20	70	3,17	14,0
VRG2	152	19	70	3,45	24,1
VRG3	158	19	72	3,36	20,9

Źródło: Berbeć A., 2007 (3).

Potencjalne możliwości poszerzenia puli odmian odpornych na czarną zgniliznę korzeni daje również dziki gatunek *N. glauca*, którego odporność na *Ch. elegans* jest warunkowana przez jeden bądź kilka genów dominujących. Istniejący stan wiedzy na temat możliwości wykorzystania tego gatunku jako źródła odporności dla tytoniu opiera się przede wszystkim na wynikach prowadzonych od kilku lat badań w IUNG-PIB w Puławach nad mieszańcami *N. tabacum* odm. Wiślica x *N. glauca*. W wyniku wspomnianych badań w roku 2006 wyselekcjonowano linie hodowlane tytoniu „WGL”, charakteryzujące się odpornością na czarną zgniliznę korzeni. Uzyskane linie pod względem podstawowych cech użytkowych były bardzo zbliżone do wyjściowej odmiany uprawnej tytoniu, co świadczy o ich wysokiej przydatności gospodarczej.

Przeprowadzone w 2006 roku ścisłe badania polowe pozwoliły określić wpływ odporności uzyskanej od *N. glauca* na wzrost, rozwój i plonowanie dziesięciu zaawansowanych linii hodowlanych tytoniu. Badane linie WGL pod względem wysokości roślin i liczby liści na roślinie były bardzo zbliżone do genotypu rodzicielskiego – odmiany Wiślica (tab. 4). Szerokość i długość liścia środkowego były większe we

Tabela 4

Parametry wzrostu linii hodowlanych tytoniu WGL pochodzących z krzyżowania *N. tabacum* cv. Wiślica x *N. glauca* i odmiany rodzicielskiej

Genotyp	Liczba liści na roślinie	Liść środkowy			Wysokość roślin (cm)	Liczba dni do kwitnienia
		długość (cm)	szerokość (cm)	powierzchnia (cm <sup>2</sup> )		
WGL1	29,4	49,9	31,6	1011,2	160,9	75,4
WGL2	27,8	48,2	27,2	841,1	153,8	68,9
WGL3	28,8	53,0	27,2	1049,4	176,2	64,6
WGL4	26,3	48,1	28,3	878,3	158,7	63,4
WGL5	28,1	45,4	26,7	777,2	153,1	67,0
WGL6	27,3	47,0	27,1	823,6	154,6	65,0
WGL7	29,4	49,6	28,7	911,5	168,3	73,0
WGL8	28,8	51,1	28,9	949,8	167,3	68,0
WGL9	26,0	48,0	29,2	911,1	152,3	64,5
WGL10	27,1	49,6	29,5	943,6	161,0	65,4
Wiślica	27,6	44,1	25,1	718,2	156,8	65,4
NIR 0,05	r.n.	6,5	5,7	258,9	r.n.	9,08

r.n. – różnice nieistotne

Źródło: Trojak-Goluch A., Berbec A., 2007 (25).

wszystkich badanych liniach WGL w porównaniu z odmianą Wiślica, aczkolwiek istotne różnice stwierdzono tylko dla dwóch linii. Obecność odporności typu *glauca* nieznacznie determinowała tempo rozwoju roślin. Największy wpływ czynnika odporności dał się zauważyć w długości fazy wegetatywnej, tj. liczbie dni od sadzenia roślin do pełni kwitnienia. Większość linii WGL kwitła znacznie później niż odmiana Wiślica (25).

We wszystkich badanych liniach WGL zaznaczył się niewielki depresyjny wpływ obecności czynnika odporności na suchą masę 1 dm<sup>2</sup> blaszki liściowej, chociaż różnice w porównaniu z odmianą Wiślica mieściły się w granicach błędu statystycznego. Wprowadzenie odporności typu *glauca* do genomu tytoniu nie spowodowało negatywnego wpływu na cechy chemiczne tytoniu uprawnego (tab. 5). Analizując skład chemiczny liści nie stwierdzono istotnych różnic w zawartości azotu, nikotyny i cukrów. Ostatni z wymienionych parametrów chemicznych charakteryzował się wyraźną zmiennością międzyliniową, jednakże uzyskane różnice nie były statystycznie istotne.

Wymienione linie są wciąż na etapie selekcji pożądanych fenotypów, analiz chemicznych liści i oceny walorów smakowych po przepaleniu. Pozytywne wyniki badań cech morfologicznych i chemicznych linii „WGL” świadczące o charakterystyce odpowiadającej wymogom praktyki rolniczej, a w szczególności spełniającej oczekiwania firm kontraktujących surowiec tytoniowy, pozwolą na wprowadzenie do uprawy nowych odmian z odpornością na *Ch. elegans* typu *glauca*.

Tabela 5

Cechy fizyczne i chemiczne liści linii hodowlanych tytoniu WGL pochodzących z krzyżowania *N. tabacum* cv. Wiślica x *N. glauca* i odmiany rodzicielskiej

Genotyp	Wysuszone liście					
	masa 10 liści (g)	masa 1 dm <sup>2</sup> liści (g)	plon (t · ha <sup>-1</sup> )	N całkowity (%)	cukry (%)	nikotyna (%)
WGL1	38,7	0,54	2,00	2,53	17,41	1,08
WGL2	36,8	0,52	1,83	2,17	22,15	1,24
WGL3	50,1	0,71	1,94	2,19	16,71	1,33
WGL4	40,5	0,54	1,89	2,37	15,24	1,53
WGL5	41,6	0,67	2,03	2,18	20,70	1,53
WGL6	42,5	0,67	1,88	2,23	18,57	1,39
WGL7	49,1	0,58	1,91	2,05	21,14	1,44
WGL8	36,6	0,55	1,87	2,02	19,69	1,18
WGL9	42,5	0,52	1,97	2,27	17,23	1,41
WGL10	46,8	0,70	1,87	2,20	20,35	1,24
Wiślica	47,4	0,75	1,91	2,23	17,42	1,40
NIR 0,05	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.

Źródło Trojak-Goluch A., Berbec A., 2007 (25).

## Podsumowanie

Występowanie czarnej zgnilizny korzeni jest wciąż znaczącym problemem na polskich plantacjach tytoniu. Badania własne, doniesienia literatury i spostrzeżenia z praktyki rolniczej wskazują, że do najważniejszych czynników zapobiegających występowaniu choroby, jak również czynników ograniczających straty nią spowodowane, należą:

- uprawa odmian odpornych,
- coroczna wymiana podłoża wykorzystywanego do produkcji rozsady,
- dezynfekcja wszystkich urządzeń niezbędnych przy produkcji rozsady,
- wysadzanie wyłącznie zdrowej rozsady,
- wybór właściwej gleby pod odpowiedni typ tytoniu,
- utrzymywanie właściwego pH gleby (5,5-6,0),
- stosowanie płodozmianu ze zbożami lub kukurydzą,
- uprawa w szerokich rozstawach rzędów z głęboszowaniem gleby,
- przestrzeganie zasad fitosanitarnych.

Przeprowadzone w IUNG-PIB w Puławach prace hodowlane z wykorzystaniem odporności pochodzącej od dzikiego gatunku *N. debneyi* doprowadziły do uzyskania odmian odpornych tytoniu i przełamania dotychczas występującego w tytoniu Virginia negatywnego efektu sprzężenia odporności typu *debneyi* z niekorzystnymi cechami agrotechnicznymi roślin. Wynikiem tych prac hodowlanych są odmiany tytoniu Virginia doskonale dostosowane do warunków klimatyczno-glebowych Polski. Należy jednak zauważyć, że zdolności przystosowawcze do środowiska i zmienność genetyczna

czynników chorobotwórczych mogą przyczyniać się do powstawania nowych ras patogenów. Pojawianie się nowych ras patogenów z jednej strony, a rygorystyczne wymagania wysokiej jakości surowca stawiane przez światowy przemysł tytoniowy z drugiej skłoniły do podjęcia badań nad wykorzystaniem alternatywnego źródła odporności na czarną zgniliznę korzeni jakim jest dziki gatunek *N. glauca*. Wstępne wyniki badań walorów użytkowych zawansowanych linii z odpornością typu *glauca* świadczą o ich wysokiej przydatności gospodarczej. Pomyślnie zakończenie prac hodowlanych i wprowadzenie do uprawy tytoniu z odpornością typu *glauca* poszerzy pulę polskich odmian Virginii odpornych na czarną zgniliznę korzeni.

### Literatura

1. Bai D., Reeleder R., Brande J.: Production and characterization of tobacco addition lines carrying *N. debneyi* chromosomes with a gene for resistance to black root rot. *Crop Sci.*, 1996, **36**: 852-857.
2. Berbeć J.: Zgorzel korzeni tytoniu (*Thielaviopsis basicola* Ferr.) w świetle literatury. *Biul. IHAR*, 1957, **19**: 17-30.
3. Berbeć A.: Uprawa odmian tytoniu Virginia odpornych na czarną zgniliznę korzeni Instr. upowsz., IUNG-PIB Puławy, 2007, **136**.
4. Berbeć A., Trojak-Goluch A.: Response to black root rot (*Thielaviopsis basicola* Ferr.) of several flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) genotypes in different testing environments. *Plant Breed. Seed Sci.*, 2001, **45(2)**: 11-20.
5. Clayton E.: The study of resistance to the black root rot disease of tobacco. *Tob. Sci.*, 1969, **13**: 30-37.
6. Florczak K.: Odporność odmian i mieszańców tytoniu na *Thielaviopsis basicola* (Berk. et Br.) Ferraris w świetle badań przeprowadzonych w latach 1979–1988. *Biul. CLPT*, 1991, **3(4)**: 37-44.
7. Gaye S.: Host range and persistence of *Thielaviopsis basicola* in tobacco soil. *Can. J. Plant Sci.*, 1972, **52**: 869-873.
8. Haji H., Brande J.: Evaluation of host resistance and soil fumigation for the management of black root rot of tobacco in Ontario. *Plant Dis.*, 2001, **85(11)**: 1145-1148.
9. Hood M., Shew H.: Pathogenesis of *Thielaviopsis basicola* on susceptible and a resistant cultivar of Burley tobacco. *Phytopathology*, 1996, **86(1)**: 38-44.
10. Koel C., Voisard C., Berling C., Kahr G., Defago G.: Iron sufficiency, a prerequisite for the suppression of tobacco black root rot by *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO under gnotobiotic conditions. *Phytopathology*, 1989, **79**: 584-589.
11. Laskowska D.: Stan aktualny i perspektywy produkcji tytoniu w Polsce. *Pam. Puł.*, 2003, **132**: 271-286.
12. Legg P., Litton C., Collins G.: Effect of *Nicotiana debneyi* black root rot resistance factor on agronomic and chemical traits in burley tobacco. *Theor. Appl. Genet.*, 1981, **60**: 365-368.
13. Lucas G.: Diseases of tobacco. Raleigh, North Carolina. 1975.
14. Meyer J., Shew H., Harrison U.: Inhibition of germination and growth of *Thielaviopsis basicola* by aluminium. *Phytopathology*, 1994, **84**: 598-602.
15. Nicoletti, R.: La resistenza genetica al marciume nero delle radici del tabacco. *Il Tabacco*, 1999, **7**: 15-19.
16. Punja Z., Sun L.: Morphological and molecular characterization of *Chalara elegans* (*Thielaviopsis basicola*), cause of black root rot on diverse plant species. *Can. J. Bot.*, 1999, **77**: 1801-1812.
17. Reddy M., Patrick Z.: Suppressing effect of rye covercrop on incidence and severity of black root rot caused by *Thielaviopsis basicola*. *Phytopathology*, 1988, **78(12)**: 1544.
18. Rocznik Statystyczny GUS. Warszawa, 2007.

19. Shew H., Lucas G.: Compendium of Tobacco Diseases. American Phytopathological Society, St. Paul, MN., 1991, 21-23.
20. Shew H., Langdon A., Hood M. E.: Interaction of aluminium and calcium on development of *Thielaviopsis basicola*. CORESTA Meet. Agro-Phyto Groups, Montreux, 1997, **AP53**.
21. Shew H., Shoemaker P.: Effects of host resistance and soil fumigation on *Thielaviopsis basicola* and development of black root rot on Burley tobacco. Plant Dis., 1993, **77(10)**: 1035-1039.
22. Spetch L., Griffin G., Reilly J.: Inoculum densities of *Thielaviopsis basicola* in tobacco fields and the role of black root rot in tobacco stunting in Virginia. Plant Dis., 1987, **71(10)**: 876-879.
23. Sławiński A.: Zwalczanie chorób i szkodników tytoniu. CLPT, Kraków, 1994, 21-25.
24. Tosi L., Zazzzerini A.: Effect of monoculture on soil populations of *Thielaviopsis basicola* and screening tobacco cultivars for resistance. Phytopathol. Mediterr., 1991, **30(3)**: 187-92.
25. Trojak-Goluch A., Berbeć A.: Growth, development and chemical characteristics of tobacco lines carrying black root rot resistance derived from *Nicotiana glauca* (Grah.). CORESTA Joint Study Groups Meeting, Kraków, 2007, **AP16**.
26. Wernsman E., Carlson S., Lewis R.: Building a designer chromosome as a gene shuttle for transgenic tobaccos. Biul. Coresta, Montreux, 1997, **2**: 60.
27. Wilkinson C., Shew H., Ruffy R.: Evaluation of components of partial resistance to black root rot in Burley tobacco. Plant Dis., 1995, **79(7)**: 738-741.
28. Wheeler T., Gannaway J., Keating K.: Identification of resistance to *Thielaviopsis basicola* in diploid cotton. Plant Dis., 1999, **83**: 831-833.
29. Yarwood C.: Occurrence of *Chalara elegans*. Mycologia, 1981, **73**: 524-530.
30. Yarwood C., Levkina L.: Crops favoring *Thielaviopsis*. Plant Disease Reporter, 1976, **60(4)**: 347-350.

Adres do korespondencji:

dr Anna Trojak-Goluch  
Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin  
IUNG-PIB  
ul. Czartoryskich 8  
24-100 Puławy  
tel. 081886 34 21 w. 212  
e-mail: [anngol@iung.pulawy.pl](mailto:anngol@iung.pulawy.pl)





**Anna Trojak-Goluch, Apoloniusz Berbec**

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy  
w Puławach*

**PRZYDATNOŚĆ NOWYCH KONTAKTOWYCH I SYSTEMICZNYCH  
ŚRODKÓW CHEMICZNYCH DO USUWANIA PĘDÓW BOCZNYCH  
TYTONIU\***

**Wstęp**

Jednym z podstawowych zabiegów pielęgnacyjnych tytoniu, który wpływa korzystnie na plon i jakość liści jest ogławianie, czyli usuwanie kwiatostanu głównego. Zabieg ten ma na celu zatrzymanie asymilatów i produktów przemiany materii w liściach, dzięki temu liście stają się większe, treściwsze i szybciej dojrzewają (8). Ogławianie przeprowadza się najczęściej w okresie wytwarzania przez roślinę pąków kwiatowych. Bezpośrednim skutkiem ogławienia rośliny jest zanik dominacji wierzchołkowej, co powoduje wzmożony wzrost pędów bocznych. Pędy boczne tytoniu, potocznie zwane pasynkami, wyrastają z pąków znajdujących się w kątach liści (1). W każdym kącie znajdują się trzy pąki, z których mogą wyrosnąć pędy boczne. Pozostawienie ich na roślinie powoduje straty plonu sięgające 20-35%, spadek zawartości nikotyny w liściach, opóźnione dojrzewanie liści podwierzchołkowych i wierzchołkowych (12). Dlatego też z zabiegiem ogławiania ściśle związane jest pasynkowanie, czyli usuwanie pędów bocznych. Już w latach sześćdziesiątych do pasynkowania używano syntetycznych związków chemicznych z grupy regulatorów wzrostu (hydrazyd kwasu maleinowego, kwas  $\alpha$ -naftalenoctowy, sól sodowa kwasu dwuchlorofenoksyoctowego) oraz różne oleje pochodzenia roślinnego i zwierzęcego (4, 5). Stosowane obecnie środki do ograniczania wzrostu pędów bocznych to przede wszystkim substancje z grupy herbicydów, organiczne związki chemiczne z grupy hydrazydów (np. antyrost), jak również preparaty olejowe zawierające w swym składzie olej parafinowy (7). W zależności od sposobu działania na odrosty boczne tytoniu wymienione środki można podzielić na trzy grupy: kontaktowo-systemiczne, systemiczne i kontaktowe (3). Środki kontaktowo-systemiczne są miejscowo wchłaniane u nasady liścia i rozprowadzane w roślinie. Powodują zahamowanie podziałów komórkowych, a zatem wstrzymanie wzrostu pasynków. Do tej grupy należą środki zawierające w swym składzie pochodne aminy aromatycznej dinitroaniliny, np. flumetralina, butralina i pen-

---

\* Opracowanie wykonano w ramach zadania 2.7 w programie wieloletnim IUNG - PIB

dimetalina. Ta ostatnia jest substancją czynną preparatów Stomp 330 EC i Stomp 400 SC do niedawna jedynych dopuszczonych do użytku w Polsce. Kolejną grupę stanowią środki wchłaniane systemicznie całą powierzchnią rośliny. Należy tu między innymi hydrazyd maleinowy (HM) i jego pochodne, np. sól potasowa hydrazydu kwasu maleinowego. Związek ten oddziałuje na młode części roślin powodując zmniejszenie ilości auksyn, a w konsekwencji zahamowanie wydłużania międzywęźli i zatrzymanie intensywnego wzrostu (11). Problemem są znaczne pozostałości tego związku w liściach (6). W Polsce od 2001 roku można stosować środek Fazor 80 SG zawierający w swym składzie HM. Odmienne działanie od wyżej opisanego wykazują środki kontaktowe, które działają miejscowo, tj. nie wnikają w głąb tkanki roślinnej, powodując rozpuszczenie powierzchniowej woskowej warstwy ochronnej odrostu (kutikuli). Intensywne promieniowanie słoneczne wypala delikatne tkanki pędów bocznych pozabawionych bariery ochronnej (9). Wymienione środki zawierają w swym składzie alkohole tłuszczowe ( $C_{10}$  lub mieszaninę alkoholi  $C_6$ - $C_{12}$ ), a wśród nich wykazujący silne działanie pasynkobójcze N-dekanol. Związek ten jest substancją czynną wprowadzonego na rynek polski w 2007 roku preparatu Antak 675 EC, która ze względu na swoje właściwości fizykochemiczne i sposób działania nie pozostawia praktycznie żadnych pozostałości w roślinie.

Postęp w hodowli roślin, jak również intensywny rozwój przemysłu chemicznego wprowadzającego na polski rynek nowe środki hamujące wzrost pasynków z różnych grup działania skłania do prowadzenia badań nad oceną skuteczności biologicznej środków w usuwaniu pędów bocznych tytoniu.

Celem przeprowadzonych badań było sprawdzenie czy stosowanie w uprawie tytoniu wybranych regulatorów wzrostu zapewnia wymaganą skuteczność niszczenia odrostów, a także czy nie wpływa ujemnie na plonowanie tytoniu. Poznanie tych zagadnień jest ważne z punktu widzenia przestrzegania dobrej praktyki ochrony roślin.

### Metodyka badań

W latach 2002–2006 wykonano w IUNG-PIB w Puławach, w ramach Badań Rejestracyjnych Środków Ochrony Roślin (BRŚOR), trzy doświadczenia nad oceną skuteczności niszczenia odrostów bocznych tytoniu przez środki należące do trzech różnych grup działania. Doświadczenia zakładano na polach produkcyjnych tytoniu na terenie Lubelszczyzny, Podlasia i Wyżyny Kieleckiej. Charakterystykę użytych w doświadczeniach środków oraz sposób ich stosowania podano w tabeli 1. Doświadczenia założono w układzie bloków losowych, z odmianami w typie Burley i Virginia, dominującymi na polskich plantacjach tytoniu. Stosowano agrotechnikę przewidzianą dla odpowiednich typów tytoniu. Rośliny ogłowiono na początku kwitnienia, tj. w momencie, gdy 80% roślin posiadało co najmniej jeden otwarty, różowy kwiat. Niszczenie odrostów przeprowadzono tuż po zabiegu ogławiania. Skuteczność działania środków chemicznych oceniano na podstawie średniej długości odrostów bocznych mierzonych w kątach 5 górnych liści na każdym z poletek na pięciu losowo wybranych

Tabela 1

Charakterystyka środków ochrony roślin użytych w doświadczeniach z tytoniem w latach 2002–2006

Nazwa preparatu	Substancja aktywna, dawka	Sposób działania	Rok badania	Sposób stosowania preparatu
Stomp 330 EC	pendimetalina, 0,0742 g/roślinę	kontaktowo-systemiczny	2006	ręczne polewanie wierzchołka łodygi
Fazor 80 SG	hydrazyd maleinowy, 0,1296 g/roślinę	systemiczny	2005	oprysk opryskiwaczem plecakowym w 1/3 górnej części rośliny
Antak 675 EC	N-dekanol, 0,040 g/roślinę	kontaktowy	2002	oprysk całej rośliny

Źródło: Opracowanie własne.

roślinach. Pomiaru długości odrostów dokonywano w trzech terminach: 1 tydzień, 4 tygodnie po aplikacji środka oraz tuż przed ostatnim zbiorem liści. Po wykonaniu ostatnich pomiarów długości odrostów bocznych zerwano je i określono świeżą masę. Ocenę skuteczności działania środków przeprowadzono przez porównanie świeżej masy odrostów zebranych z obiektów traktowanych regulatorami wzrostu i z obiektu kontrolnego. Określono również suchą masę plonu liści. Oceny fitotoksycznego działania środków dokonano metodą bonitacyjną 3 tygodnie po zastosowaniu regulatorów wzrostu, posługując się 9-stopniową skalą bonitacyjną EWRC (2).

Natomiast do interpretacji działania preparatów wykorzystano kryteria oceny skuteczności niszczenia odrostów bocznych tytoniu zawarte w Rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 4.08.2004 r. (Dz. U. Nr 183, poz. 1890).

### Wyniki i dyskusja

Stosowanie regulatorów wzrostu na rośliny tytoniu powodowało wyraźne ograniczenie wzrostu odrostów bocznych. W doświadczeniu nr 1, w tydzień po zabiegu środek zawierający pendimetalinę w stężeniu 1,5% zastosowany na odmianach Bms1 i Wiślica spowodował wyraźne zahamowanie wzrostu odrostów bocznych w stosunku do obserwowanego w obiekcie kontrolnym i wykazał stosunkowo wysoką skutecznością działania (tab. 2). Podobną zależność zaobserwowano 4 tygodnie po aplikacji środka. Średnia długość pasynków w obiekcie traktowanym środkiem Stomp 330 EC nie przekraczała 2,5 cm, podczas gdy na obiekcie kontrolnym długość odrostów przekraczała 33 cm. Największą skuteczność ograniczania długości odrostów bocznych na obydwu badanych odmianach tytoniu zanotowano po 7 tygodniach od przeprowadzenia zabiegu. W tym terminie długość odrostów bocznych nie przekroczyła 3 cm, a skuteczność działania środka była bardzo wysoka. Zastosowany środek Stomp 330 EC skutecznie zmniejszał świeżą masę odrostów. Średnia masa 5 odrostów z obiektu, na którym zastosowano badany środek była istotnie mniejsza od uzyskanej z obiektu kontrolnego (tab. 3). Mechanizm działania regulatorów wzrostu

Tabela 2

Efekt działania środka Stomp 330 EC w niszczeniu odrostów bocznych tytoniu

Nr dośw./ odmiana	Obiekt	Steżenie (%)	Tydzień po zabiegu		4 tygodnie po zabiegu		Przed ostatnim zbiorem liści	
			długość odrostów (cm)	skutecz- ność (%)	długość odrostów (cm)	skutecz- ność (%)	długość odrostów (cm)	skutecz- ność (%)
1/Bms1	kontrola	-	4,2	0	33,7	0	64,3	0
	Stomp 330 EC	1,5	0,9	78	2,4	93	3,0	95
	preparat standard.	0,54	2,4	42	8,3	75	9,2	86
	NIR		1,2	-	10,6	-	3,6	-
1/Wiślica	kontrola	-	2,4	0	32,1	0	54,1	0
	Stomp 330 EC	1,5	1,0	57	1,3	96	1,3	98
	preparat standard.	0,54	1,5	35	7,7	76	14,7	73
	NIR		0,9	-	11,8	-	4,4	-

Źródło: Wyniki BRŚOR IUNG-PIB Puławy, 2006.

z grupy pochodnych dinitroaniliny, do których należy badany środek, polega na inhibicyjnym działaniu na merystemy wierzchołkowe (10).

Charakterystycznymi symptomami uszkodzeń są przejaśnienia, deformacje blaszki liściowej oraz zahamowanie wzrostu roślin. Po zastosowaniu środka Stomp 330 EC zaobserwowano delikatne zmiany morfologii górnych liści w postaci lekkiej chlorozy oraz marszczenia 2-3 górnych liści (tab. 8). Plonowanie tytoniu zależy między innymi od przeprowadzonego we właściwym terminie zabiegu pasynkowania, tj. tuż po ogłowieciu, gdy długość odrostów nie przekroczy 2 cm. W badaniach *Wysockiej* (13) wykazano, że pasynkowanie tytoniu przyczynia się do zwiększenia plonu liści (poprzez zwiększenie masy 1 dm<sup>2</sup> blaszki liściowej), jak również korzystnie wpływa na skład chemiczny liści. W omawianym doświadczeniu wykazano, że stosowanie środka Stomp 330 EC do niszczenia odrostów bocznych przyczyniło się istotnie do zwiększenia plonu liści tytoniu (tab. 3).

Doświadczenie 2 z odmianami TN 90 i Wiślica z wykorzystaniem środka Fazor 80 SG wykazało wyraźną redukcję długości odrostów bocznych tytoniu. W pierwszym tygodniu po zabiegu środek Fazor 80 SG w sposób istotny hamował wzrost pasynków w porównaniu z zanotowanym w obiekcie kontrolnym. Rezultaty uzyskane po 4 tygodniach od zabiegu dały lepszy pogląd na skuteczność działania hydrazylu maleinowego (Fazor 80 SG). Średnia długość odrostów z obiektów traktowanych środkiem była zależnie od odmiany o 23,2 i 13,4 cm mniejsza od długości odrostów w obiekcie kontrolnym (tab. 4).

Tabela 3

Wpływ środka Stomp 330 EC na świeżą masę odrostów oraz suchą masę liści tytoniu

Nr dośw./ odmiana	Obiekt	Stężenie (%)	Świeża masa odrostów (średnia z 5 roślin) (g)	Zniszczenie odrostów (%)	Plon liści tytoniu (kg s.m. · ha <sup>-1</sup> )	Wzrost plonu w stosunku do kontroli (%)
1/Bms 1	kontrola	-	2412,3	0	1779	-
	Stomp 330 EC	1,5	35,8	99	2043	14,9
	środek standard	0,54	145,8	94	1947	9,5
NIR			446,6	-	218,8	-
1/Wiślica	kontrola	-	2254,3	0	2052	-
	Stomp 330 EC	1,5	7,8	99	2571	25,3
	środek standard	0,54	359,0	84	2562	24,8
NIR			450,3	-	308,6	-

Źródło: Wyniki BRŚOR IUNG-PIB Puławy rok 2006.

Tabela 4

Efekt działania środka Fazor 80 SG w niszczeniu odrostów bocznych tytoniu

Nr dośw./ odmiana	Obiekt	Stężenie (%)	Tydzień po zabiegu		4 tygodnie po zabiegu		Przed ostatnim zbiorem liści	
			długość odrostów (cm)	skuteczność (%)	długość odrostów (cm)	skuteczność (%)	długość odrostów (cm)	skuteczność (%)
2/Wiślica	kontrola	-	14,7	0	28,9	0	46,6	0
	Fazor 80 SG	0,54	3,7	75	5,7	80	8,3	82
	preparat standard	1,5	1,7	89	1,9	94	2,1	96
NIR			2,4	-	7,0	-	8,9	-
2/ TN 90	kontrola	-	5,8	0	17,8	0	33,0	0
	Fazor 80 SG	0,54	3,5	38	4,4	75	5,9	82
	preparat standard	1,5	1,9	67	2,0	89	2,2	94
NIR			1,8	-	2,4	-	2,2	-

Źródło: Wyniki BRŚOR IUNG-PIB Puławy, 2005.

Zastosowany środek Fazor 80 SG ograniczał wzrost odrostów bocznych do końca sezonu wegetacyjnego. Stwierdzona przed zbiorem ostatnich liści stosunkowo wysoka skuteczność działania środka wynosząca około 82% świadczyła o długim okresie

jego działania. Wykazana w tym doświadczeniu efektywność biologiczna środka Fazor 80 SG była nieznacznie gorsza od obserwowanej w obiekcie traktowanym środkiem standardowym. Prawdopodobnie wpływ na uzyskane wyniki miały warunki pogody panujące po wykonaniu oprysku. Należy przypuszczać, że intensywny opad deszczu, który wystąpił kilka godzin po zabiegu ograniczył wchłonięcie preparatu do wnętrza roślin, tym samym miał negatywny wpływ na efekt systemicznego działania preparatu. Odzwierciedleniem ograniczającego działania środka Fazor 80 SG była jednak świeża masa tych odrostów. Pasyunki z obiektu traktowanego regulatorem wzrostu posiadały staśmione, wąskie liście i miały istotnie mniejszą masę niż w obiekcie kontrolnym (tab. 5).

Działanie fitotoksyczne środka objawiało się lekkim żółknięciem blaszki liściowej (tab. 8). Stąd należy przypuszczać, że środek może zwiększać skłonność do przedwczesnego dojrzewania górnych liści. Tego rodzaju reakcja jest dość często powodowana przez regulatory wzrostu, w tym pochodne hydrazynu maleinowego (7). Zabieg niszczenia odrostów istotnie modyfikował plon liści w stosunku do kontroli. W obiektach, w których zastosowano Fazor 80 SG stwierdzono istotny przyrost plonu w stosunku do kontroli, który dla odmiany TN 90 wyniósł 721,2 kg.

W doświadczeniu 3 N-dekanol zastosowany w stężeniu 4% dał doskonale rezultaty niszczenia pasynków. W 2002 roku jeden tydzień po zastosowaniu środka średnia długość pasynków wyniosła około 1 cm, a środek charakteryzował się wysoką skutecznością działania 79% (tab. 6). Jeszcze lepszy pogląd na skuteczność N-dekanolu dały porównawcze wyniki po upływie 4 tygodni od zabiegu. W tym terminie średnia długość pasynków w obiektach traktowanych preparatem Antak 675 EC wyniosła 1,5 cm,

Tabela 5

Wpływ środka Fazor 80 SG na świeżą masę odrostów oraz suchą masę liści tytoniu

Nr dośw./ odmiana	Obiekt	Stężenie (%)	Świeża masa odrostów (średnia z 5 roślin) (g)	Zniszczenie odrostów (%)	Plon liści tytoniu (kg s.m. · ha <sup>-1</sup> )	Wzrost plonu w stosunku do kontroli (%)
2/Wiślica	kontrola	-	1505,8	0	2250	-
	Fazor 80 SG	0,54	79,0	94,8	2553	13,4
	preparat standard	1,5	8,8	99,4	2852	26,7
NIR			139,9	-	358,0	-
2/TN 90	kontrola	-	1006,3	0	2380	-
	Fazor 80 SG	0,54	58,0	98,9	3101	30,3
	preparat standard	1,5	20,8	99,6	3125	31,3
NIR			102,3	-	127,4	-

Źródło: Wyniki BRŚOR IUNG-PIB Puławy, 2005.

Tabela 6

Efekt działania środka Antak 675 EC w niszczeniu odrostów bocznych tytoniu

Nr dośw./ odmiana	Obiekt	Stężenie (%)	Tydzień po zabiegu		4 tygodnie po zabiegu		Przed ostatnim zbiorem liści	
			długość odrostów (cm)	skutecz- ność (%)	długość odrostów (cm)	skutecz- ność (%)	długość odrostów (cm)	skutecz- ność (%)
3/Wiślica	kontrola	-	4,9	0	14,9	0	28,0	0
	Antak 675EC	4	1,0	79	1,5	90	1,9	93
	preparat standard.	1,5	1,0	80	1,4	91	1,5	95
NIR			0,6	-	3,3	-	2,7	-

Źródło: Wyniki BRŚOR IUNG-PIB Puławy, 2002.

podczas gdy w obiektach kontrolnych średnia długość odrostów wyniosła około 15 cm. Efektywność działania N-dekanolu określona na podstawie średniej długości pasynków mierzonej 7 tygodni po zabiegu (przed zbiorem ostatnich liści) była bardzo dobra. Średnia długość pasynków nie przekroczyła 2 cm, a zatem ich wzrost był praktycznie zahamowany. Znalazło to odzwierciedlenie w redukcji świeżej masy pędów bocznych w porównaniu z masą odrostów pochodzących z roślin nieopryskanych (tab. 7). Stwierdzone po zastosowaniu N-dekanolu uszkodzenia liści były znikome. Jedynie u pewnej liczby roślin (mniej niż 10%) stwierdzono słabe przebarwienia nasady liścia i niekiedy nekrozy (tab. 8). Prawdopodobnie wynikały one ze sporadycznych przypadków przedawkowania związanych z ręczną aplikacją środka. W doświadczeniu 3 stwierdzono, że po zastosowaniu środka Antak 675 EC nastąpił istotny wzrost plonu liści z jednostki powierzchni.

Tabela 7

Wpływ środka Antak 675 EC na świeżą masę odrostów oraz suchą masę liści tytoniu

Nr dośw./ odmiana	Obiekt	Stężenie (%)	Świeża masa odrostów (średnia z 5 roślin) (g)	Zniszczenie odrostów (%)	Plon liści tytoniu (kg s.m. · ha <sup>-1</sup> )	Wzrost plonu w stosunku do kontroli (%)
3/Wiślica	kontrola	-	1006,3	0	2657	0
	Antak 675 EC	4	58,0	94	3062	15,2
	środek standard.	1,5	20,8	98	2876	8,2
NIR			102,3	-	314,5	-

Źródło: Wyniki BRŚOR IUNG-PIB Puławy, 2002.

Tabela 8

Fitotoksyczne działanie regulatorów wzrostu na morfologię liści tytoniu 3 tygodnie po zabiegu

Preparat chemiczny	Substancja aktywna; dawka	F*	Zmiany w morfologii roślin
Stomp 330 EC	pendimatalina; 0,0742 g/roślinę	3	lekkie zahamowanie wzrostu 2-3 górnych liści; chlorozy oraz lekkie marszczenie nasady blaszki 3-4 górnych liści
Fazor 80 SG	hydrazyd maleinowy; 0,1296 g/roślinę	2-3	lekkie zahamowanie wzrostu i żółknięcie blaszki liściowej 3-4 górnych liści
Antak 675 EC	N-dekanol; 0,040 g/roślinę	2	przebarwienia podstawy liścia, niekiedy nekrozy

\* F – liczba bonitacyjna w 9° skali fitotoksyczności  
Źródło: Wyniki BRŚOR IUNG-PIB Puławy lata 2002–2006.

### Podsumowanie

Reasumując wyniki badań należy stwierdzić, że w warunkach Lubelszczyzny, Podlasia i Wyżyny Kieleckiej zwalczanie odrostów bocznych tytoniu typu Virginia i Burley środkami o działaniu miejscowo-układowym (Stomp 330 EC), układowym (Fazor 80 SG) i kontaktowym (Antak 675 EC) okazało się zabiegiem celowym i skutecznym, gdyż istotnie ograniczało długość odrostów bocznych. Użyte środki chemiczne, niezależnie od typu działania, wykazały wysoką efektywność niszczenia odrostów roślin w zastosowanych dawkach i terminach. W przypadku środka Fazor 80 SG skuteczność ograniczenia długości pasynków była nieco mniejsza od uzyskanej dla środka porównawczego z powodu niekorzystnego przebiegu pogody kilka godzin po zabiegu. W tych warunkach odzwierciedleniem działania środka niszczącego odrosty tytoniu była ich świeża masa, a nie długość; odrosty pomimo znacznej długości posiadały staśmione, wąskie liście i miały małą świeżą masę. Uzyskane wyniki wskazują jednak na to, że aby skutecznie ograniczać wzrost pędów bocznych tytoniu z użyciem hydrazidu maleinowego zabieg pasynkowania należy przeprowadzać w optymalnych dla działania środka warunkach pogody.

Badane środki zazwyczaj powodowały nieznaczne zmiany w morfologii liści, tj. lekkie zahamowanie ich wzrostu, deformacje bądź przejaśnienia blaszki liściowej, co jednak nie wpływało negatywnie na plonowanie roślin. Stosowanie środków chemicznych do usuwania odrostów istotnie zwiększało plon liści tytoniu z obiektów traktowanych regulatorami wzrostu w porównaniu z osiąganym na obiektach kontrolnych. Wyniki badań potwierdzają przydatność środków niszczących odrosty boczne do stosowania w uprawie tytoniu.



## Literatura

1. Atkinson, W. O., Sims J. L.: Nitrogen composition of burley tobacco. II. Influence of nitrogen fertilization, suckering practice, and harvest date on yield, value and distribution of dry matter among plant parts. *Tob. Sci.*, 1973, **17**: 63-66.
2. Badoński M. i in.: Metodyka doświadczeń biologicznej oceny herbicydów, bioregulatorów i adiuwantów. I. Doświadczenia polowe. IUNG Puławy, 2001, **cz. 1**: 44-46.
3. Berbeć A., Trojak-Goluch A.: Dekanol – bezpieczny i skuteczny środek do zwalczania bocznych odrostów tytoniu. *Przegl. Tyton.*, 2006, **2**: 11-13.
4. Berbeć J.: Badania nad możliwością hamowania wzrostu bocznych pędów tytoniu (*Nicotiana tabacum* L. i *N. rustica* L.) przy pomocy niektórych preparatów. *Biul. IHAR*, 1961, **6**: 53.
5. Biskup J.: Zastosowanie preparatów chemicznych do hamowania wzrostu pasynków tytoniu. *Wiad. Tyton.*, 1957, **6**: 88.
6. Harada K., Mori K., Hirose E.: A comparison of the effects of contact-type and penetration-and-translocation-type sucker control. CORESTA Congress, Kyoto, Japan, 2004, **AP 10**.
7. Kosaka Y., Goto F., Kawakami C., Wato T., Mori K.: New sucker control chemical for tobacco cultivation in Japan. CORESTA Congress, Santa Cruz do Sul, Brazil, 2005, **AP 17**.
8. Lis Z., Opoka B.: Technologie uprawy roślin. Tytoń. W: Zalecenia agrotechniczne. IUNG Puławy, 1994, **33**: 1-29.
9. Mazurra U., Flower K. C.: Sucker control after simulated rain CORESTA Congress, Cape Town, South Africa, 2001, **AP 11**.
10. Moore J. M.: Topping and Chemical sucker control programs for Georgia. <http://commodities.caes.uga.edu/fieldcrops/tobacco/handbook/sucker-prgs.html>
11. Pawińska M.: Zastosowanie środka Fazor 80 SG w ograniczaniu kiełkowania bulw ziemniaka w okresie przechowalniczym. *Progr. Plant Prot./Post. Ochr. Rośl.*, 2007, **47(2)**: 248-253.
12. Trojan J. (red.): Tytoń – uprawa, hodowla, fermentacja. Praca zbiorowa. PWRiL Warszawa, 1969, 196-200.
13. Wysocka M.: Reakcja tytoniu Burley na zabiegi ogławiania i pasynkowania. Praca doktorska, AR Lublin, 2006.

Adres do korespondencji:

*dr Anna Trojak-Goluch*  
*Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin*  
*IUNG-PIB*  
*ul. Czartoryskich 8*  
*24-100 Puławy*  
*tel. 081 886 34 21 w. 212*  
*e-mail: [anngol@iung.pulawy.pl](mailto:anngol@iung.pulawy.pl)*



Urszula Skomra

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy  
w Puławach*

## GLÓWNE KIERUNKI HODOWLI CHMIELU W POLSCE I NA ŚWIECIE\*

### Wstęp

Hodowla roślin jest podstawowym elementem postępu biologicznego w rolnictwie. Jej efektem jest wprowadzanie do uprawy nowych odmian roślin, które łączą w sobie wiele korzystnych cech wychodzących naprzeciw wymaganiom nowoczesnego rolnictwa, przetwórstwa i konsumentów. Podstawą hodowli jest dobór właściwych form rodzicielskich oraz selekcja uzyskanych genotypów odpowiednio do modelu odmiany, czyli zbioru właściwości jakimi powinna się ona wyróżniać.

W hodowli chmielu branych jest pod uwagę szereg cech morfologicznych oraz cech związanych z plennością i składem chemicznym surowca bądź też odpornością roślin na choroby i szkodniki. W ciągu ostatnich 50 lat materiał hodowlany chmielu oceniano na podstawie ponad 30 różnych kryteriów (18, 27). Ich znaczenie zmieniało się wraz ze zmianą podstawowych celów hodowli, które z kolei były modyfikowane przez takie czynniki, jak postęp technologiczny lub zagrożenie ze strony chorób i szkodników.

W pracy przedstawiono aktualne kierunki prac hodowlanych oraz postęp osiągnięty w procesie tworzenia nowych odmian chmielu w Polsce i na świecie.

### Potencjał plonowania i zawartość alfa kwasów

Podstawowym kierunkiem hodowli roślin rolniczych, w tym również chmielu, jest wysoka plenność, która decyduje o opłacalności produkcji. W ciągu ostatnich kilkunastu lat potencjał plonowania odmian chmielu znacznie wzrósł. Tradycyjne odmiany aromatyczne, takie jak niemiecka Hallertauer Mittelfrüh, angielska Fuggle i czeska Żatecki osiągały plon szyszek w granicach 800-1500 kg · ha<sup>-1</sup>. Nowe aromatyczne odmiany niemieckie, tj. Opal i Smaragd, wprowadzone do uprawy po 2000 r., dają plon szyszek przekraczający 1800 kg · ha<sup>-1</sup> (39). Natomiast plonem w granicach 2000-2600 kg · ha<sup>-1</sup> charakteryzuje się zarejestrowana w 2004 r. czeska odmiana Harmonie (1). Podobny postęp obserwuje się w grupie odmian goryczkowych. Wyho-

---

\* Opracowanie wykonano w ramach zadania 2.7 w programie wieloletnim IUNG - PIB

dowana w Anglii w 1944 r. odmiana goryczkowa Northern Brewer, ciesząca się dużą popularnością na całym świecie, dawała około 1600 kg szyszek z ha plantacji, podczas gdy najnowsze odmiany goryczkowe, takie jak niemiecka Herkules i czeska Rubin osiągają plon nawet powyżej 2500 kg · ha<sup>-1</sup> (1, 37). Jeszcze wyższym potencjałem plonowania, dochodzącym do 3000 kg · ha<sup>-1</sup>, charakteryzują się nowe odmiany amerykańskie, takie jak Zeus i Columbus (16).

Dla przemysłu piwowarskiego, który jest głównym odbiorcą surowca chmielowego, najważniejszym składnikiem szyszek są alfa kwasy. To one nadają piwu specyficzną goryczkę. Duża zawartość alfa kwasów jest więc podstawową cechą braną pod uwagę w hodowli nowych odmian chmielu, zwłaszcza goryczkowych. Pierwsze odmiany tego typu, jak angielskie Brewers Gold i Northern Brewer oraz amerykańska Cluster osiągały koncentrację alfa kwasów w granicach 5,5 do 10%. W nowych odmianach, takich jak niemiecka Herkules i czeska Rubin zawartość tego składnika osiąga odpowiednio 12-17% (37) i 9-12% (1). W szyszkach nowej amerykańskiej odmiany Summit (2007 r.) zawartość alfa kwasów dochodzi nawet do 19% (14). Względy ekonomiczne spowodowały, że podwyższona zawartość alfa kwasów jest ważną cechą również w przypadku odmian aromatycznych, mimo że dla tego typu odmian największe znaczenie ma szlachetny, chmielowy aromat. Nowoczesne odmiany aromatyczne, takie jak niemiecka Opal bądź czeska Harmonie zawierają 5-8% alfa kwasów (1, 39), a więc blisko dwukrotnie więcej niż starsze odmiany, np. Zatecki (2,5-4%), Hallertauer Mittelfrüh (3-5%) i Fuggle (4-5,5%).

Postęp w zakresie wzrostu potencjału plonowania i koncentracji alfa kwasów można prześledzić na podstawie wyników doświadczeń prowadzonych przez Krajową Komisję Oceny Odmian w latach 1959–1963 (19), a następnie Centralny Ośrodek Badań Odmian Roślin Użytkowych (COBORU) w latach: 1976–1979, 1982–1985, 1991–1994 (21) i 2000–2004 (22). Ważnym elementem oceny postępu jest ustalenie wzorca, od którego należy mierzyć wahania plonów lub koncentracji alfa kwasów. Zadanie wzorca w przypadku odmian aromatycznych najlepiej spełnia odmiana Lubelski, badana we wszystkich seriach doświadczeń porównawczych. Dla odmian goryczkowych za wzorzec przyjęto odmianę Marynka. Różnice w plonie i zawartości alfa kwasów między odmianą wzorcową a pozostałymi wynikają wyłącznie z postępu hodowlanego, gdyż wpływ pozostałych czynników jest taki sam dla wszystkich odmian.

Prace hodowlane nad chmielom po II wojnie światowej zaowocowały wprowadzeniem do rejestru w 1964 r. odmian Lubelski i Nadwiślański (41). Obie odmiany okazały się lepsze pod względem plonowania, jak i koncentracji alfa kwasów od uprawianych dotychczas populacji chmielu pochodzenia krajowego i zagranicznego – głównie czeskiego (tzw. populacja czeska). Szczególnie wyróżniała się odmiana Lubelski, której plon szyszek 1900 kg · ha<sup>-1</sup> był o 25% większy od plonu populacji czeskiej (tab. 1). Po drugiej serii doświadczeń odmianowych (lata 1976–1979) wprowadzono do rejestru dwie nowe odmiany aromatyczne: Estera i Tomyski, których plon przewyższał wzorzec odpowiednio o 17,3% i 19,1%, co przy większej koncentracji alfa kwasów dawało wyższy plon tego składnika z jednostki powierzchni. Na szczególną uwagę

zasługują odmiany Lomik i Sybilla, których plon w badaniach COBORU przekroczył 2000 kg · ha<sup>-1</sup>. Odmiany te pod względem potencjału plonowania dorównują nowoczesnym odmianom aromatycznym wprowadzonym w ostatnim czasie do uprawy w Niemczech i Republice Czeskiej (1, 39). Postęp osiągnięty w okresie powojennym w hodowli odmian aromatycznych najlepiej charakteryzuje plon alfa kwasów z ha, który jest wypadkową plonu szyszek i procentowej zawartości alfa kwasów. W przypadku populacji czeskiej średni plon alfa kwasów wynosił 86,4 kg · ha<sup>-1</sup> i był o 39,4% mniejszy w porównaniu z odmianą Lubelski, podczas gdy dla odmiany Sybilla kształtował się na poziomie 154,6 kg · ha<sup>-1</sup> i był ponad dwukrotnie większy od wzorca (tab. 1).

Cechą charakterystyczną odmian goryczkowych jest wyższy w porównaniu z aromatycznymi potencjał plonowania i większa zawartość alfa kwasów. Pierwszymi polskimi odmianami tego typu były Marynka i Izabella, wprowadzone do uprawy w 1988 r. (41). Nowe odmiany goryczkowe przewyższały dotychczas uprawianą angielską odmianę Northern Brewer zarówno pod względem plonu szyszek, jak i alfa kwasów z jednostki powierzchni (tab. 2). Szczególnie dużym zainteresowaniem przemysłu piwowarskiego i plantatorów cieszyła się odmiana Marynka. Przez blisko 20 lat od momentu wprowadzenia do uprawy jej areal systematycznie wzrastał i obecnie jest to najpopularniejsza odmiana chmielu uprawiana w Polsce. Grupa odmian goryczkowych wprowadzona do uprawy pod koniec lat 90. (Oktawia, Zbyszko) charakteryzowała się nieco niższymi wskaźnikami plenności, ale najnowsze odmiany goryczkowe wprowadzone do uprawy w 2004 r. są lepsze od Marynki zarówno pod względem plonowania, jak i koncentracji alfa kwasów. Szczególnie duży postęp wniosła odmiana Iunga, z której można uzyskać nawet o 50% wyższy plon alfa kwasów w porównaniu z odmianą wzorcową (tab. 2).

Tabela 1

Plony szyszek, zawartość alfa kwasów i ich plon w aromatycznych odmianach chmielu wprowadzonych do uprawy w Polsce po II wojnie światowej

Lata badań	Odmiana	Plon szyszek		Zawartość alfa kwasów		Plon alfa kwasów	
		(kg · ha <sup>-1</sup> )	liczby względne	%	liczby względne	(kg · ha <sup>-1</sup> )	liczby względne
1959–1963	Lubelski	1900	100,0	7,5	100,0	142,5	100,0
	Populacja czeska	1416	74,5	6,1	81,0	86,4	60,6
	Nadwiślański	1645	86,6	6,3	84,0	103,6	72,7
1976–1979	Lubelski	1620	100,0	5,0	100,0	81,0	100,0
	Estera	1900	117,3	5,4	108,0	102,6	126,7
	Tomyski	1930	119,1	6,0	120,0	115,8	143,0
1982–1985	Lubelski	1840	100,0	4,3	100,0	79,1	100,0
	Lomik	2380	129,3	6,1	141,9	145,2	183,6
1991–1994	Lubelski	1770	100,0	4,3	100,0	76,1	100,0
	Limbus*	1980	111,9	5,9	137,2	116,8	153,5
	Sybilla	2240	126,6	6,9	160,5	154,6	203,2

\* odmiana karłowa

Źródło: Klaudel J. i in., 1965 (19), Lewandowski A., 2003 (21)

Tabela 2

Plony szyszek, zawartość alfa kwasów i ich plon w goryczkowych odmianach chmielu wprowadzonych do uprawy po II wojnie światowej

Lata badań	Odmiana	Plon szyszek		Zawartość alfa kwasów		Plon alfa kwasów	
		(kg · ha <sup>-1</sup> )	liczby względne	%	liczby względne	(kg · ha <sup>-1</sup> )	liczby względne
1982–1985	Marynka	2310	100,0	10,2	100,0	235,6	100,0
	Izabella	2780	120,4	9,3	91,2	258,5	109,7
	Northern Brewer	2070	89,6	9,4	92,2	194,6	82,6
1991–1994	Marynka	2220	100,0	10,4	100,0	230,9	100,0
	Oktawia	2240	100,9	8,8	84,6	197,1	85,4
	Zbyszko*	1610	72,5	7,9	76,0	127,2	72,4
2003–2004	Marynka	2580	100,0	10,2	100,0	263,2	100,0
	lunga	2940	114,0	13,2	129,4	388,1	147,5
	Zula	2630	101,9	11,0	107,8	289,3	109,9

\* odmiana karłowa

Źródło: Lewandowski A., 2003; Lewandowski A., 2005(21, 22)

Należy podkreślić, że w rozpatrywanym okresie wzrost plonu szyszek był znacznie mniejszy niż wzrost koncentracji alfa kwasów, w obu grupach odmian. Plon szyszek najlepszej pod tym względem lungi był około dwukrotnie większy niż odmiany Lubelski, podczas gdy koncentracja alfa kwasów była trzykrotnie większa. Wydaje się więc, że osiągnięcie postępu hodowlanego w zakresie koncentracji alfa kwasów jest łatwiejsze niż uzyskiwanie odmian o wysokim potencjale plonowania. Potwierdzają to wyniki badań *M i l c z a k a i S e g i t a* (26).

### Chmiel karłowy

Wzrost potencjału plonowania i koncentracji alfa kwasów w szyszkach nie jest jedynym sposobem poprawy opłacalności uprawy chmielu. Podobny efekt ekonomiczny można uzyskać obniżając koszty produkcji. W tym zakresie największy postęp uzyskano przez wprowadzenie nowej technologii uprawy chmielu na niskich konstrukcjach szpalerowych o wysokości 2,5-3,0 m. Konstrukcja niskoszpalerowa jest tańsza i łatwiejsza do ustawienia od tradycyjnej wysokiej 6-7 m. Zbiór szyszek odbywa się bezpośrednio na plantacji, przy użyciu samobieżnego kombajnu; nie wymaga więc pracochłonnego transportowania całych roślin do stacjonarnej maszyny do zbioru, co ma miejsce w technologii tradycyjnej. Poza tym, zastosowany w technologii niskoszpalerowej opryskiwacz tunelowy zużywa mniej cieczy roboczej, co zmniejsza koszty ochrony i ogranicza zanieczyszczenie środowiska. W konsekwencji pozwala to na zmniejszenie kosztów produkcji o 45% (7). Niestety tradycyjne odmiany wysokorosnące nie nadają się do uprawy na niskich konstrukcjach, dają bowiem zdecydowanie mniejszy plon. Rozwiązaniem są odmiany karłowe o krótkich międzywęzłach, zawią-

zujące szyszki od dołu rośliny. Hodowlę tego typu odmian rozpoczęto w Anglii w 1977 r. W 1996 r. wprowadzono do uprawy odmiany First Gold, Herald i Pioneer, których plon stanowił blisko 80% przeciętnego plonu uzyskiwanego z konstrukcji wysokich (7). Prace nad chmielem karłowym w Anglii są kontynuowane. Ostatnio zarejestrowane odmiany Pilot i Boadicea dają plon porównywalny z odmianami tradycyjnymi. Obecnie chmiel niskoszpalerowy zajmuje około 24% arealu chmielu w Anglii (9) oraz na mniejszą skalę jest uprawiany w Belgii, Bułgarii, Chinach i Czechach. Prace nad odmianami chmielu przystosowanymi do uprawy na niskich konstrukcjach prowadzone są również w USA, gdzie w 2007 r. wprowadzono półkarłowatą odmianę Summit (14).

Prace nad odmianami karłowymi prowadzone były również w Polsce. Zaowocowały one zarejestrowaniem w 1996 r. dwóch odmian tego typu: Zbyszko i Limbus (41). Niestety technologia uprawy chmielu na konstrukcji szpalerowej nie znalazła w naszym kraju zwolenników, przede wszystkim ze względu na wysokie nakłady niezbędne do jej wprowadzenia, dlatego ten kierunek hodowli nie jest obecnie w Polsce kontynuowany.

### **Odporność na choroby i szkodniki**

Dużą część kosztów produkcji stanowią nakłady na ochronę roślin chmielu przed chorobami i szkodnikami. Szacuje się, że koszt ochrony plantacji przed mączniakiem prawdziwym w Niemczech w latach 1998–2003 wahał się od 180 do 350 euro na ha (12). Stosowanie chemicznych środków ochrony roślin wywiera też negatywny wpływ na środowisko. Wprowadzenie zagrożenie dla środowiska może być zmniejszone przez wprowadzenie technologii niskoszpalerowej lub zastosowanie biologicznych metod ochrony, jednak preparaty biologiczne są zazwyczaj droższe od chemicznych, a ich skuteczność, szczególnie w warunkach polowych, bywa zawodna. Rozwiązaniem jest uprawa odmian odpornych lub mniej podatnych na choroby i szkodniki. Dlatego dążenie do uzyskania takich odmian jest od wielu lat bardzo ważnym kierunkiem w hodowli chmielu.

Pierwszą chorobą, która w poważnym stopniu zagroziła plantacjom chmielu był mączniak rzekomy. Choroba ta została wykryta w Japonii w 1905 r., ale już w latach 20. ubiegłego wieku rozprzestrzeniła się w Europie, a następnie w USA, powodując poważne straty (33). Prace nad uzyskaniem odmian odpornych zapoczątkowano w Niemczech w 1926 r. Zaowocowały one wprowadzeniem do uprawy w 1962 r. odmian Hüller Anfang i Hüller Start, które wymagały zastosowania w ciągu sezonu wegetacyjnego jedynie 1-2 zabiegów ochronnych, co w porównaniu z 15-20 zabiegami stosowanymi w przypadku odmian wrażliwych było bardzo dużym postępem (34). W latach 50. hodowlę odmian chmielu odpornych na mączniaka rzekomego rozpoczęto w Anglii i USA, a pod koniec lat 60. również w Polsce (13). Prace te zaowocowały wprowadzeniem do uprawy odmian chmielu o mniejszej podatności na tę chorobę, takich jak: angielskie – Wye Northdown i Wye Challenger, amerykańskie – Cascade, Columbia i Willamette oraz polska odmiana Oktawia. Odporność chmielu na mączniak-

ka rzekomego ma charakter poligeniczny (8). Nie jest znana odporność całkowita, a jedynie mniejsza podatność poszczególnych odmian, a nawet części rośliny chmielu (34). Wspomniana już odmiana Willamette jest średnio podatna na porażenie karpy, natomiast w znacznym stopniu odporna na porażenie szyszek. Hodowla chmielu pod kątem odporności na mączniaka rzekomego jest nadal kontynuowana. Opracowano procedury oceny odporności roślin, które pozwalają na skuteczną selekcję perspektywicznych genotypów w szklarni, a następnie w warunkach polowych (8, 13, 31). Trwają prace nad wdrożeniem nowoczesnych technik molekularnych do oceny materiału hodowlanego, co pozwoli na jego weryfikację pod kątem występowania odpowiednich genów warunkujących odporność (29).

Jednym z poważniejszych problemów na plantacjach chmielu było wędnięcie infekcyjne powodowane przez grzyb *Verticillium albo-atrum*. Choroba występuje w formie łagodnej, objawiając się wędnięciem roślin odmian wrażliwych, ale nie powoduje ich obumierania oraz w formie letalnej, prowadzącej do obumierania roślin odmian wrażliwych (32). W przypadku tej choroby nie jest możliwe stosowanie skutecznej ochrony chemicznej. Poprawę zdrowotności roślin można osiągnąć metodami agrotechnicznymi, takimi jak racjonalne nawożenie, zabiegi uprawowe zwiększające przewietrzanie gleby, stosowanie wsiewek, niszczenie chwastów i usuwanie chorych roślin (42). Jednak najlepsze rezultaty przynosi uprawa odmian chmielu o mniejszej podatności na tę chorobę. Formę letalną wercyciliozy stwierdzono po raz pierwszy w Anglii w 1933 r. i tam też w latach 40. rozpoczęto prace nad uzyskaniem odmian odpornych (34). Ich rezultatem było wprowadzenie do uprawy odmian charakteryzujących się małą wrażliwością na tę chorobę, takich jak Wye Target, Yeoman i Phoenix (4). Częściowo rozpoznano również złożony genetyczny mechanizm odporności, w którym występuje zarówno system poligeniczny, jak i odporność warunkowana przez pojedyncze, dominujące geny (6). W Polsce choroba pojawiła się w latach 70. w formie łagodnej, powodując poważne straty szczególnie na plantacjach wrażliwej odmiany Lubelski (42). W celu ograniczenia strat sprowadzono do naszego kraju angielską odmianę Northern Brewer, która charakteryzowała się mniejszą podatnością na wercyciliozę i nadawała się do uprawy na tych plantacjach, gdzie już wcześniej stwierdzono występowanie tej choroby (41). Ponadto propagowano wśród plantatorów zabiegi agrotechniczne, zwłaszcza w zakresie racjonalnego nawożenia azotem, zmniejszające ryzyko wystąpienia choroby. Rozpoczęto również testowanie materiału hodowlanego chmielu w warunkach prowokacyjnych. Stąd też odmiany wprowadzone do uprawy w latach 80. i później (Marynka, Izabella, Sybilla, Zbyszko) charakteryzują się mniejszą wrażliwością na tę chorobę niż starsza odmiana Lubelski. Obecnie w Polsce choroba występuje na plantacjach produkcyjnych sporadycznie, podobnie jak w Niemczech, gdzie nowe odmiany chmielu charakteryzują się bardzo dobrą lub dobrą odpornością na wercyciliozę (39). Obecnie intensywna hodowla w kierunku odporności na wędnięcie infekcyjne prowadzona jest w Anglii, gdzie występują patogennicne rasy *V. albo-atrum* powodujące letalną formę choroby (6, 8). W 1977 r. ta groźna forma wercyciliozy pojawiła się również w Słowenii (32); do 2002 r. zaatakowa-



wała ponad 160 ha chmielników, z tego połowę zlikwidowano. Sytuacja ta doprowadziła do zintensyfikowania prac hodowlanych pod kątem odporności chmielu na wędnięcie infekcyjne (17, 31).

Jedną z najwcześniej poznanych chorób chmielu był mączniak prawdziwy. Na początku XX wieku stanowił on poważne zagrożenie w USA i Anglii, ale w kontynentalnej części Europy występował sporadycznie, nie wyrządzając większych szkód. Wprowadzenie do uprawy odmian wrażliwych, wymagających intensywnej ochrony chemicznej, która często bywała nieskuteczna, spowodowało zintensyfikowanie prac nad hodowlą odmian odpornych na mączniaka prawdziwego. Rozpoczęto je w 1962 r. w Anglii (34). Poznano genetyczny mechanizm odporności na tę chorobę, który opiera się na działaniu pojedynczych, dominujących genów odporności, specyficznych w stosunku do rasy patogena (23). Odporność tego typu, zwana też odpornością pionową, jest stosunkowo nietrwała, przelamywana jest bowiem przez nowe rasy grzyba (4, 40). Przykładem jest odmiana Wye Challenger wyhodowana w Anglii w 1972 r., jako pierwsza odmiana odporna na mączniaka prawdziwego. Jej odporność została przełamana po dwóch latach uprawy (15). Odporność na mączniaka prawdziwego, warunkowana przez większość poznanych dotychczas genów odporności, została przełamana przez nowe rasy patogena (40). Najbardziej trwała w warunkach polowych jest odporność determinowana przez gen R2, którego źródłem jest angielska odmiana Wye Target, wprowadzona do uprawy w 1973 r. (40). Gen R2 jest aktualnie wykorzystywany w programie hodowlanym w Niemczech, którego efektem jest wprowadzenie do uprawy odmian Hallertauer Merkur i Herkules odpornych na mączniaka prawdziwego (37, 39). To samo źródło odporności wykorzystywane jest również w pracach hodowlanych prowadzonych w Polsce. W Anglii prowadzone są prace nad częściową odpornością o charakterze poligenicznym, która nie jest wyspecjalizowana w stosunku do rasy patogena, dzięki temu jest bardziej trwała (8, 11). Uzyskanie odmian odpornych na mączniaka prawdziwego jest obecnie priorytetowym kierunkiem hodowli odpornościowej w wielu liczących się ośrodkach chmielarskich, ale najbardziej intensywne prace w tym zakresie są prowadzone w Niemczech i USA. Poszukiwane są nowe źródła odporności na tę chorobę wśród chmielu dzikiego (24). W hodowli odmian odpornych na mączniaka prawdziwego wykorzystywane są nowoczesne techniki molekularne do oceny materiałów hodowlanych pod kątem obecności odpowiednich genów determinujących odporność (35, 36, 38). Przeprowadzono też udaną próbę transformacji genetycznej polegającej na wprowadzeniu genu chitynazy HCH1, biorącego udział w reakcji odporności na mączniaka prawdziwego, z odmiany Zenith do dwóch odmian wrażliwych na tę chorobę – Hallertauer Mittelfrüh i Żatecki (25). Te różnorodne działania doprowadziły do uzyskania i wprowadzenia do uprawy odmian odpornych na mączniaka prawdziwego, takich jak wspomniane już niemieckie Hallertauer Merkur i Herkules, czy też amerykańskie Millennium i Summit.

Szczególnie trudna jest hodowla w kierunku odporności na szkodniki. Na plantacjach chmielu najczęściej występują mszyca śliwowo-chmielowa i przędziorek chmielowiec. Poszukiwania genotypów odpornych na mszycę rozpoczęto w Anglii na początku lat 80. ubiegłego wieku (5). Najbardziej obiecująca pod tym względem okazała

się męska roślina chmielu pochodząca z górskich rejonów Japonii. Badania tego genotypu wykazały dużą, a przy tym stabilną odporność uwarunkowaną działaniem dwóch dominujących genów. Stopień odporności był na tyle wysoki, że pozwalał na zabezpieczenie plantacji przed mszycą jedynie z pomocą wrogów naturalnych, bez ochrony chemicznej. Genotyp ten został użyty jako źródło odporności na mszyce, niestety uzyskane potomstwo charakteryzowało się wieloma niekorzystnymi cechami, typowymi dla chmielu dzikiego (4). Prace hodowlane mające na celu połączenie cechy odporności na mszyce z innymi korzystnymi cechami agronomicznymi trwały kilka lat i zakończyły się sukcesem w 2004 r., kiedy w Anglii wprowadzono do uprawy pierwszą odporną na mszyce odmianę o nazwie Boadicea (7, 9). Prace hodowlane w kierunku odporności na mszyce prowadzone są również w Słowenii. Zainicjowano tam badania mające na celu ustalenie markerów molekularnych związanych z tą cechą (2). Niestety nie udało się dotychczas ustalić źródła odporności na przedziorka chmielowca, ale prace pod tym kątem są prowadzone w Anglii (5).

### **Substancje bioaktywne**

W ostatnich latach chmiel znalazł się w obszarze zainteresowań kompanii farmaceutycznych jako potencjalne źródło substancji bioaktywnych mogących znaleźć zastosowanie w medycynie. Największe zainteresowanie budzą specyficzne dla chmielu polifenole: ksantohumol i desmetyloksantohumol oraz ich pochodne. Ksantohumol wykazuje działanie hamujące powstawanie nowotworów, ponadto posiada właściwości przeciwzapalne, korzystnie wpływa na przemiany cholesterolu w organizmie, przez co zmniejsza ryzyko zapadania na chorobę wieńcową, a także ogranicza ubytek masy kostnej, który prowadzi do osteoporozy. Desmetyloksantohumol, a właściwie jego pochodna – 8-prenylnaringenin – jest jednym z najskuteczniej działających fitoestrogenów. Związek ten ogranicza namnażanie komórek nowotworowych, nie wykazując przy tym działania toksycznego oraz posiada zdolność agregacji komórek raka piersi, co oznacza, że może hamować przerzuty nowotworu do innych narządów. Aktywność biologiczna polifenoli chmielowych została potwierdzona w licznych badaniach laboratoryjnych, ale zawartość tych związków w produkcyjnych odmianach chmielu jest stosunkowo niska. Zawartość ksantohumolu waha się w zależności od odmiany od 0,2 do około 1,2% (10, 20), a desmetyloksantohumulonu od 0,05 do 0,2% (20). Rozpoczęto więc prace hodowlane w kierunku uzyskania odmian o wyższej koncentracji ksantohumolu (10). Jest to perspektywiczny kierunek hodowli, który pozwoli na wykorzystanie chmielu poza przemysłem piwowarskim.

## Podsumowanie

Tradycyjne metody hodowli chmielu są długotrwałe i pracochłonne, co wynika z samej natury tego dwupiennego gatunku. Osiągnięcie sukcesu zależy w dużej mierze od doboru odpowiednich komponentów rodzicielskich do krzyżowań. W przypadku chmielu jest to wyjątkowo trudne, bowiem rośliny męskie, które nie wytwarzają szyszek nie mogą być oceniane pod względem najważniejszych cech użytkowych w sposób bezpośredni, a jedynie na podstawie badań uzyskanego potomstwa, co znacznie wydłuża pracę hodowcy. Niezbędnym elementem w hodowli roślin jest selekcja, czyli wybór perspektywicznych genotypów z licznego materiału wyjściowego. W przypadku chmielu, który jest rośliną wieloletnią selekcja pod względem wielu cech, takich jak potencjał plonowania czy koncentracja alfa kwasów, wymaga kilkuletnich obserwacji roślin w warunkach polowych, więc liczba ocenianych genotypów jest ograniczona rozmiarami plantacji. Trudności te są stopniowo przezwyciężane przez użycie w procesie hodowlanym nowoczesnych technik oceny potomstwa opartych na analizie DNA. Identyfikacja genów warunkujących określone cechy pozwoliła na opracowanie odpowiednich markerów molekularnych, które umożliwiają ocenę genotypów pod względem danej cechy niezależnie od ich płci, czy też czynników środowiska. Ponadto identyfikację perspektywicznych genotypów można przeprowadzać już w fazie siewek, co znacznie zmniejsza liczbę roślin przeznaczonych do oceny w warunkach polowych. W przypadku chmielu opracowano markery molekularne dla takich cech, jak płeć (30) oraz odporność na mączniaka prawdziwego (35, 38). Trwają prace nad uzyskaniem markerów wspomagających selekcję roślin w kierunku odporności na mszycę (2), mączniaka rzekomego (29) i werciliozę (17) oraz zawartości alfa kwasów (3, 28). Techniki molekularne wspomagają obecnie tylko niektóre kierunki hodowli chmielu, ale postęp w tym zakresie jest bardzo szybki. Ich wdrożenie na szerszą skalę pozwoli na opracowanie efektywniejszych strategii hodowlanych i przyspieszy prace nad uzyskiwaniem nowych odmian chmielu.

## Literatura

1. Atlas Czech hop varieties. Hop Research Institute. Žatec. [www.chizatec.cz/atlas\\_odrud\\_chmele.htm](http://www.chizatec.cz/atlas_odrud_chmele.htm)
2. Čerenak A., Javornik B.: Analysis of molecular markers correlated with resistance of hop (*Humulus lupulus* L.) to damson-hop aphid (*Phorodon humuli* Schrank). Proc. Sci. Commission. Canterbury, Kent, England, 5-7 August, 2001, 25-28.
3. Čerenak A., Šatović Z., Javornik B.: Genetic mapping of hop (*Humulus lupulus* L.) applied to the detection of QTLs for alpha acid content. Genome, 2006, 49: 485-494.
4. Darby P.: Current objectives in UK hop breeding. Proc. Commission. Strasbourg, France, 25-28 July, 1995, 57-63.
5. Darby P.: New selection criteria in hop breeding. Proc. Sci. Commission. Puławy, Poland 27-30 July, 1999, 3-6.
6. Darby P.: Single gene traits in hop breeding. Proc. Sci. Commission. Canterbury, Kent, England, 5-7 August, 2001, 76-80.

7. Darby P.: Hop growing in England in the twenty-first century. J. Roy. Agric. Soc. England, 2004, **165**: 84-90.
8. Darby P.: The assessment of resistance to diseases in the UK breeding programme. Proc. of the Sci. Commission. George, South Africa 20-25 February, 2005, 7-11.
9. Darby P.: The UK breeding programme: a new site and new objectives. Proc. Sci. Commission. Tettang, Germany 24-28 June, 2007, 10-13.
10. Darby P., Atkinson R., Buggley L. A., Meacham A. E.: The potential for selective breeding to increase the xanthumol content of hops. Proc. Sci. Commission. Dobrna - Žalec, Slovenia, 24-27 June, 2003, 97-100.
11. Darby P., Godwin J. R., Mansfield J. W.: The assessment of partial resistance to powdery mildew disease in hops. Plant Pathology, 1989, **38**: 219-225.
12. Engelhard B.: The impact of weather conditions on the behaviour of powdery mildew in infecting hop (*Humulus*). Acta Hort., 2005, **668**: 111-116.
13. Głazewska Z.: Testowanie odporności odmian i krzyżówek chmielu na mączniak rzekomy – *Pseudoperonospora humuli* (Miy.et Takah.) Wils. Pam. Puł., 1969, **36**: 233-238.
14. Hop plant named "Summit": [www.freepatentsonline.com/PP18039.html](http://www.freepatentsonline.com/PP18039.html)
15. Hop Powdery Mildew Electronic Symposium. Powdery mildew, *Sphaerotheca humuli*. Resistant cultivars. [www.scisoc.org/hpmes/bk\\_excp7.htm](http://www.scisoc.org/hpmes/bk_excp7.htm)
16. Hysert D. W.: USA alpha and dual-purpose hops. Potential substitutes for European alpha and dual-purpose hops. March 2004, pp.6. [www.barthhaasgroup.com/pls/bhg/publications](http://www.barthhaasgroup.com/pls/bhg/publications).
17. Jakšec J., Luthar Z., Čerenak A., Radišek S., Javornik B.: Towards the genetic map for verticillium wilt resistance. Proc. Sci. Commission. Tettang, Germany, 24-28 June, 2007, 72.
18. Klau del J.: Badania nad wartością użytkową niektórych klonów chmielu hodowli puławskiej. Pam. Puł., 1962, **6**: 71-89.
19. Klau del J., Frydecka Z., Myślicka Z., Majewski K.: Badania nad wartością użytkową 5 klonów chmielu hodowli IUNG w Puławach. Pam. Puł., 1965, **19**: 211-230.
20. Krofta K., Poustka J., Novakova K., Hajšlova J.: Contents of prenylflavonoids in Czech hops and beers. Acta Hort., 2005, **668**: 201-206.
21. Lewandowski A.: Kompleksowe badania wartości gospodarczej odmian chmielu w latach 1968–1995. Wiad. Odmianozn., 2003, **77**.
22. Lewandowski A.: Chmiel. Synteza wyników doświadczeń odmianowych 2000–2004. COBORU Słupia Wielka, 2005, **1200**.
23. Liyanage A. de S., Neve R. A., Royle D. J.: Resistance to hop powdery mildew. Rep. Dept. Hop Res. Wye Coll. for 1972, 49-50.
24. Lutz A., Kneidl J., Seigner E.: Wild hops – new sources for resistance to powdery mildew. Proc. of the Sci. Commission. Tettang, Germany, 24-28 June, 2007, 31.
25. Miehle H., Seigner E.: Production of powdery mildew resistant hops via gene transfer. Proc. of the Sci. Commission. Tettang, Germany, 24-28 June, 2007, 78-81.
26. Milczak M., Segit Z.: Hodowla nowych ideotypów chmielu dla warunków Polski. Zesz. Nauk. AR Kraków, 1985, **190(14)**: 47-53.
27. Myślicka Z., Frydecka Z.: Cechy morfologiczne i użytkowe nowych odmian chmielu wyhodowanych w Puławach. Prace Zakładu Uprawy i Hodowli Chmielu, IUNG Puławy, 1976, **R(114)**: 53-77.
28. Okada Y., Koie K., Inaba A., Kaneko T., Ito K.: Molecular markers for alpha acids; study for practical application. Proc. Commission. Tettang, Germany, 24-28 June, 2007, 56-59.
29. Patzak J.: Molecular methods in resistance hop research. Proc. Sci. Commission. Tettang, Germany, 24-28 June, 2007, 63-66.
30. Polley A., Seigner E., Ganai M. W.: Identification of sex in hop (*Humulus lupulus*) using molecular markers. Genome, 1997, **40**: 357-362.
31. Radišek S., Čerenak A., Javornik B.: Selection methods in hop disease resistance breeding in Slovenia. Proc. Sci. Commission. Tettang, Germany, 24-28 June, 2007, 26-29.

32. Radišek S., Jakše J., Simončič A., Javornik B.: Hop wilt in Slovenia: current situation and diagnostic research. Proc. Sci. Commission. Dobrna-Žalec, Slovenia, 24-27 June, 2003, 17-21.
33. Romanko R. R.: The history of hop downy mildew. Hop downy mildew – a symposium. Reprinted from Modern Brewery Age. May, 1964.
34. Royle D. J.: Breeding for resistance to hop diseases. Proc. Sci. Commission. Wye College, 12-13 August, 1976, 1-14.
35. Seefelder S., Seigner E.: Molecular markers for powdery mildew (*Sphaerotheca humuli*) resistance in hops. Proc. Sci. Commission. Dobrna - Žalec, Slovenia, 24-27 June, 2003, 8-11.
36. Seidenberger R., Mikolajewski S., Lutz A., Seigner E., Seefelder S., Weber W. E.: cDNA-AFLP markers for powdery mildew resistance in hops (*Humulus lupulus* L.). Proc. Sci. Commission. Tettang, Germany, 24-28 June, 2007, 67-70.
37. Seigner E., Lutz A., Ehrmaier H., Engelhard B.: Herkules. New powdery mildew – resistant high-alpha variety from the Hop Research Centre Hüll. HopfenRundschau International, 2006/2007, 40-45.
38. Seigner E., Lutz A., Radic-Miehle H., Seefelder S.: Breeding for powdery mildew resistance in hop (*Humulus* L.): strategies at the Hop Research Center, Huell, Germany, Acta Hort., 2005, **668**: 19-29.
39. Seigner E., Lutz A., Radic-Miehle H., Seefelder S.: Breeding and development of hop varieties at the Hop Research Center Huell. Proc. Sci. Commission. George, South Africa, 20-25 February, 2005, 18-22.
40. Seigner E., Seefelder S., Haugg B., Hesse H., Rösch H., Felsenstein F.: Investigation on the virulence spectrum of hop powdery mildew (*Sphaerotheca humuli*). Proc. Sci. Commission IHGC, Canterbury, Kent, England, 5-7 Aug., 2001, 33-37.
41. Solarska E.: Próba ustalenia przyczyny infekcyjnego więdnienia chmielu na Lubelszczyźnie. IUNG Puławy, 1976, **R(114)**: 93-105.

Adres do korespondencji:

dr Urszula Skomra  
Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin  
IUNG-PIB  
ul. Czartoryskich 8  
24-100 Puławy  
tel.: (081) 886 34 21  
e-mail: [urszula.skomra@iung.pulawy.pl](mailto:urszula.skomra@iung.pulawy.pl)



**Teresa Doroszewska, Urszula Skomra, Marcin Przybyś, Anna Czubačka,  
Magdalena Grudzińska-Sterno\***

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy  
w Puławach*

*\*Swedish University of Agricultural Science, Uppsala, Szwecja*

## UZYSKIWANIE ZDROWYCH SADZONEK CHMIELU JAKO ELEMENT RESTRUKTURYZACJI ODMIANOWEJ\*\*

### Wstęp

Zdrowotność materiału sadzonkowego chmielu jest ważnym elementem wpływającym na dalszy wzrost i rozwój roślin, jak też plonowanie i jakość surowca. Chmiel jest rośliną wieloletnią, która może być uprawiana nawet kilkadziesiąt lat w jednym miejscu, ale optymalny okres użytkowania wynosi około 20 lat. Plantacje starsze stopniowo obniżają swoją produktywność. Jedną z przyczyn jest silne porażenie roślin przez wirusy. Do najgroźniejszych wirusów występujących na roślinach chmielu należą: wirus mozaiki jabłoni (*Apple mosaic virus* – ApMV) oraz wirus mozaiki chmielu (*Hop mosaic virus* – HpMV). Innym patogenem jest wiroid utajony chmielu (*Hop latent viroid* – HLVd). Patogeny te występują powszechnie w roślinach chmielu, rozprzestrzeniając się na plantacji przez mechaniczny kontakt bądź podczas wykonywania zabiegów pielęgnacyjnych (ApMV) lub są przenoszone przez owady (HpMV). Ich obecność wpływa negatywnie na wielkość i jakość plonu (10). Porażone rośliny chmielu charakteryzują się niższym potencjałem plonowania oraz mniejszą koncentracją alfa kwasów – głównego składnika szyszek wykorzystywanego przez przemysł piwowarski. Jak wykazują badania, różnica w koncentracji alfa kwasów pomiędzy roślinami zdrowymi i porażonymi przez wirusy i wiroida utajonego chmielu sięga od kilku do kilkudziesięciu procent (5, 7, 10). Wzrost zawartości alfa kwasów przekłada się bezpośrednio na wzrost dochodu gospodarstw chmielarskich, bowiem cena surowca jest uzależniona od zawartości alfa kwasów. Wyższa koncentracja alfa kwasów oznacza także korzyści dla firm zajmujących się przetwarzaniem szyszek chmielowych na granulaty i ekstrakt. Przy tych samych kosztach przerobu szyszek przetwórcy mogą uzyskać więcej alfa kwasów, które są przedmiotem obrotu z browarami.

---

\*\* Opracowanie wykonano w ramach zadania 2.7 w programie wieloletnim IUNG - PIB

Jedyną metodą walki z wirusami i wiroidem utajonym chmielu jest stosowanie zdrowego materiału szkółkarskiego do zakładania nowych plantacji. Uwalnianie roślin chmielu od wirusów i wiroida utajonego prowadzono metodą regeneracji merystemów wierzchołkowych w warunkach *in vitro* (3). Szybko dzielące się komórki merystemu nie są zasiedlane przez czynniki chorobotwórcze, jak ma to miejsce w wyspecjalizowanych tkankach. Poprzez pasażowanie na odpowiednie pożywki uzyskano ukorzenione rośliny będące przedmiotem dalszych prac badawczych i aplikacyjnych (rys. 1).

Celem prowadzonych prac było uzyskanie zdrowego materiału sadzonkowego poprzez opracowanie i wdrożenie właściwych metod diagnostycznych, sposobów rozmnażania oraz zapewnienie odpowiednich warunków wzrostu i rozwoju.

### Metody diagnostyczne

Zastosowanie odpowiednich metod diagnostycznych stosownie do rodzaju patogena jest podstawowym elementem uzyskania zdrowego materiału sadzonkowego. W celu wykrywania obecności wirusów zastosowano metodę ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay); (1, 12). Z uwagi na fakt, że rozmieszczenie cząstek wirusa w roślinie chmielu nie jest równomierne w diagnozowaniu tych patogenów bardzo ważny jest wybór odpowiedniego materiału do badań. Do wykrywania HpMV najlepiej nadają się liście stare, które zakończyły swój wzrost, natomiast w przypadku ApMV najlepsze rezultaty uzyskuje się używając młodych, intensywnie rosnących liści chmielu (9).

Do wykrywania obydwu wirusów w roślinach chmielu stosowano próbę składającą się z liści starych oraz młodych w stosunku wagowym 1 : 1. Odważano 0,1 g liści, które następnie homogenizowano w stosunku 1 : 20 z buforem PBS pH 7,4 z dodatkiem 2% poliwinylpyrolidonu (PVP), 0,05% Tween 20 i 0,2% albuminy z jaja kurzego. Homogenizację przeprowadzano w woreczkach polietylenowych przy użyciu praski firmy Bioreba AG, zamocowanej na wiertarce elektrycznej. Uzyskane homogenaty zlewano do próbek Eppendorfa. Test wykonywano według procedury obejmującej następujące etapy:

1. Płytki napełniano roztworem odpowiedniej surowicy (100 µl do każdego wgłębienia) i inkubowano w temperaturze 37°C przez 4 godziny. W tym czasie przeciwciała adsorbowały się na porowatych ściankach wgłębienia, tworząc aktywną warstwę. Płytki spłukiwano usuwając nadmiar surowicy.

2. Poszczególne wgłębienia wypełniano homogenatem z liści badanych roślin. W każdym wgłębieniu badano próbkę z innej rośliny. Ponadto na płytce umieszczano roztwory kontroli negatywnej (bez wirusa) oraz pozytywnej (zawierającej cząstki wirusa), stanowiące punkty odniesienia podczas interpretacji wyników. Płytki umieszczano w lodówce na całą noc, tak aby cząstki wirusa, które ewentualnie znajdowały się w homogenacie weszły w reakcję z przeciwciałami tworząc trwałe kompleksy. Następnego dnia płytki spłukiwano.



3. Płytki napełniano koniugatem przeciwciał z enzymem (alkaliczną fosfatazą) i inkubowano w temperaturze 37°C przez 4 godziny. W czasie inkubacji koniugat łączył się z cząstkami wirusa – reakcja zachodziła tylko w tych wgłębieniach, które we wcześniejszym etapie analizy wypełnione były homogenatem zawierającym cząstki wirusa. W miejscach, które wypełnione były próbkami z roślin zdrowych reakcja nie zachodziła i cały koniugat był usuwany z płytki podczas kolejnego płukania.

4. W ostatnim etapie płytki napełniano roztworem substratu (p-nitrofenylofosfat), który pod wpływem enzymu wchodzącego w skład koniugatu daje barwne produkty reakcji. Po napełnieniu substratem płytki inkubowano w temperaturze pokojowej przez pół godziny, po czym przeprowadzano pomiar ekstynkcji spektrofotometrem Tecan Sunrise, przy długości fali 405 nm.

Przeciwciała wykrywające ApMV i HpMV oraz pozostałe odczynniki niezbędne do przeprowadzenia testu oraz kontrole pozytywną i negatywną zakupiono w firmie Loewe Biochemica GmbH.

W celu detekcji obecności wiroida utajonego chmielu, patogena pozbawionego białka płaszczka (CP), zastosowano technikę RT-PCR. Obecność patogena określano w preparatach całkowitych kwasów nukleinowych izolowanych z ogonków liściowych roślin chmielu.

#### **Izolacja całkowitych kwasów nukleinowych**

Świeżą masę tkanki roślinnej w ilości 100 mg homogenizowano w moździerzu z dodatkiem 650 ml buforu CTAB o składzie: 2% CTAB; 0,1 M Tris-HCL pH 8,0; 20 mM EDTA; 1,4 M NaCl; 0,4% β-merkaptoetanol (4). Homogenat przenoszono do probówki 1,5 ml i inkubowano w 68°C przez 90 minut. Po wystudzeniu do temperatury otoczenia dodawano 850 ml mieszaniny chloroform : alkohol izoamylowy (24 : 1), wytrząsano, a następnie wirowano przy 14 000 obr./min. przez 10 minut w temperaturze 4°C. Uzyskaną po wirowaniu fazę wodną w ilości 400 ml przenoszono do nowej probówki, dodawano 500 ml chloroformu, wytrząsano i wirowano w tych samych warunkach. Fazę wodną ponownie przenoszono do nowej probówki i ekstrahowano chloroformem. Następnie z fazy wodnej wytrącano kwasy nukleinowe w obecności 0,6 objętości zimnego izopropanolu oraz 0,1 objętości 3 M octanu sodu przy pH 7,4 przez 12 godzin w temperaturze -20°C. Po wirowaniu z prędkością 14 000 obr./min. przez 30 minut przemywano dwukrotnie 80% etanolem, a następnie suszono próżniowo i zawieszano w 31 ml wody Mili-Q z dodatkiem DEP (dietylopirowęglan).

#### **Wykrywanie HLVD metodą RT-PCR**

##### **a) Oznaczanie ilościowe**

Oznaczanie ilościowe RNA prowadzono metodą spektrofotometryczną przy użyciu spektrofotometru Eppendorf BioPhotometr. Do pomiaru pobierano 1 ml próbki kwasów nukleinowych, którą następnie rozcieńczano 70-krotnie wodą Mili-Q. Pomiar absorpcji wykonywano przy długości fali 260 nm.

**b) Reakcja RT-PCR**

Do reakcji RT-PCR wykorzystano specyficzne primery dla wiroida utajonego chmielu zaprojektowane na podstawie sekwencji starterów zastosowanych przez Matouška J. i in. (6). Starter HLVd-R (5'-CCACCGGGTAGTTTCCAACCT-3') komplementarny do nukleotydów 200-181 w sekwencji HLVd oraz HLVd-F (5'-ATA-CAACTCTTGAGCGCCGA-3') homologiczny do nukleotydów 201-220. Syntezę cDNA przeprowadzono w 20 ml mieszaniny reakcyjnej zawierającej 2 mg RNA, 1 x bufor reakcyjny (MBI Fermentas), 5 mM startera HLVd-R, 0,5 mM dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP); (Fermentas), 1 U inhibitora RNaz (Fermentas), 0,125 mg/ml BSA (Fermentas), 10 U odwrotnej transkryptazy M-MuLV (Fermentas). Mieszaninę reakcyjną inkubowano w 42°C przez 60 minut, a następnie denaturowano przez 5 minut w 90°C.

**c) Amplifikacja cDNA**

Reakcję PCR prowadzono w objętości 20 ml mieszaniny reakcyjnej. Do 1 ml cDNA uzyskanego po odwrotnej transkrypcji dodawano mastermix zawierający: 1 x bufor PCR (Fermentas), 1,25 mM startera HLVd-R i 1,25 mM startera HLVd-F, 62,5 mM mieszaniny dNTP (Fermentas), 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> (Fermentas). Jako ostatnią dodawano polimerazę Taq w ilości 1,25 U (Fermentas).

Amplifikacja obejmowała etapy:

1. denaturacja wstępna: 95°C przez 5 minut,
2. właściwa amplifikacja (35 cykli):
  - denaturacja 94°C przez 30 sekund,
  - annealing 58°C przez 30 sekund,
  - elongacja 72°C przez 30 sekund,
3. końcowa elongacja: 72°C przez 5 minut.

**d) Elektroforeza produktów amplifikacji**

Produkty amplifikacji analizowano w 2% żelu agarozowym w obecności bromku etydyny. Na żel nanoszono po 10 ml mieszaniny po amplifikacji z dodatkiem 2 ml barwnika obciążającego 6 x Loading Dye (Fermentas). Jako marker wielkości wykorzystano pUC19 DNA trawiony *MspI* (MBI Fermentas). Elektroforezę prowadzono w buforze 1 x TBE przy napięciu 5 V/cm. Fragment DNA o długości 250 pb odpowiadał HLVd. Wynik elektroforezy oglądano pod UV i fotografowano.

Wykrywanie HLVd metodą RT-PCR stosowano dla roślin uzyskanych z hodowli *in vitro* oraz przed każdym cięciem pędów chmielu przeznaczonych do ukorzenia. Z uwagi na bardzo dużą liczebność roślin przeznaczonych każdorazowo do badań zastosowano metodę „prób zbiorczych”. Z każdej rośliny matecznej pobierano dolne liście, a następnie przygotowywano próbę zbiorczą zawierającą ogonki liściowe czterech różnych roślin. Izolację kwasów nukleinowych prowadzono według procedury opisanej powyżej. W przypadku uzyskania pozytywnego wyniku dla próby zbiorczej, ponownie, ale indywidualnie, testowano rośliny mateczne w obrębie „pozytywnej czwórki”.

### Dobór odmian i uzyskanie roślin matecznych

Do prac nad uzyskaniem materiału sadzonkowego wolnego od wirusów i wirioida utajonego przeznaczono cztery odmiany chmielu, dwie odmiany należące do typu gorczykowego: Iunga i Magnum oraz dwie odmiany z typu aromatycznego: Sybilla i Lubelski. Odmiana Magnum jest odmianą niemiecką, trzy pozostałe zostały wyhodowane w Instytucie Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach. Iunga jest jedną z ostatnio wyhodowanych odmian, wpisaną do księgi ochrony wyłącznego prawa. Jest to odmiana o wysokiej zawartości alfa kwasów, łatwo naprowadzająca się na przewodniki, odpowiednia do zbioru maszynowego (8). Dobór odmian był podyktowany zapotrzebowaniem na określone typy surowca, jak też przydatnością odmian do uprawy polowej.

Rośliny uzyskane z merystemów (3), wolne od wirusów i wiroida utajonego chmielu, przenoszono sukcesywnie z pożywki agarowej do substratu torfowego. Pierwszy okres wzrostu roślin wyprowadzonych z warunków *in vitro* przebiegał w fitotronie w kontrolowanych warunkach temperatury i długości dnia. Aby zapewnić optymalne warunki wilgotnościowe ukorzenione rośliny sadzono w plastikowych pojemnikach z przezroczystymi przykrywkami. Rośliny pozostawały pod przykryciem około 2 tygodnie, następnie adaptowano je do warunków otoczenia i po przerośnięciu podłoża przez system korzeniowy przesadzano do większych doniczek (rys. 1). Wszystkie rośliny przebadano ponownie w kierunku obecności wirusów (ELISA) i wiroida utajonego (RT-PCR). Najwięcej roślin wykazujących obecność wirusów stwierdzono wśród odmiany Lubelski. Jest to najstarsza z odmian uwzględnionych w badaniach, o dużym nasileniu patogenów, a tym samym trudniejsza do uwolnienia (tab. 1).

Zdecydowanie więcej roślin wykazywało obecność wirusa mozaiki chmielu (HpMV) niż wirusa mozaiki jabłoni (ApMV), co może wynikać z większego zasiedlenia roślin wyjściowych pobieranych z plantacji wirusem mozaiki chmielu bądź mniejszą skutecznością jego eliminacji.

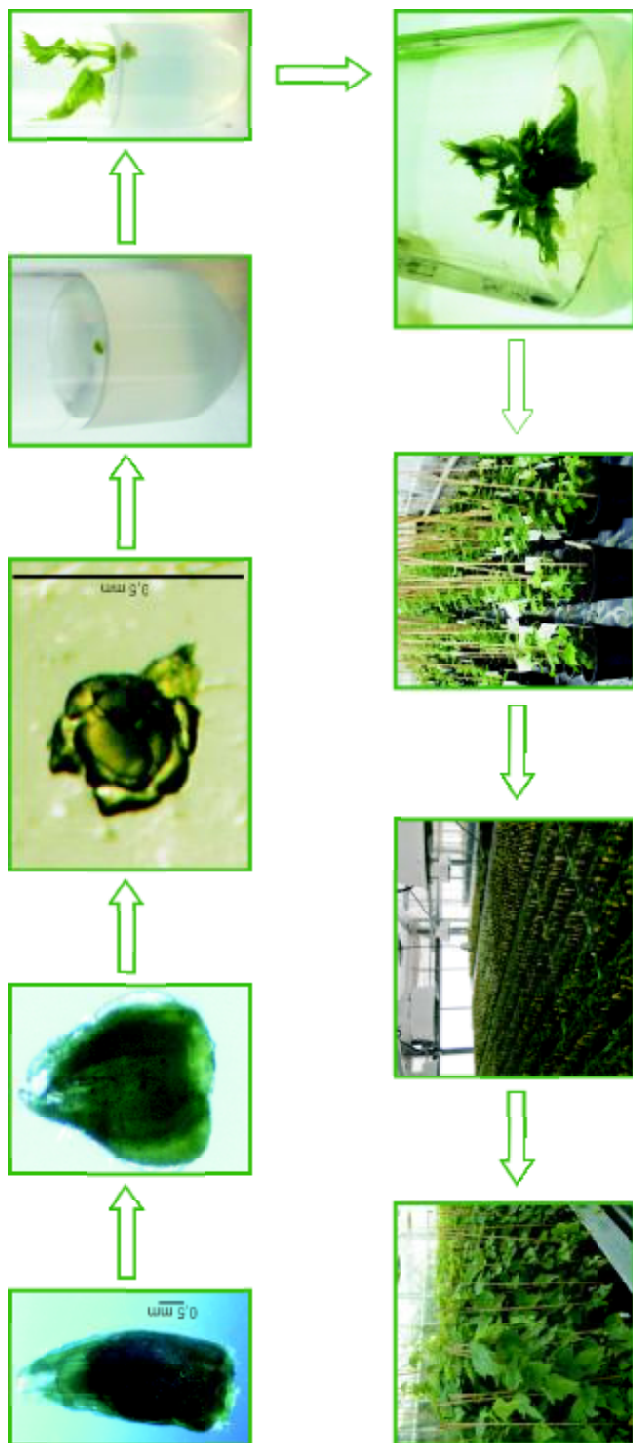
Rośliny regenerowane z merystemów były wprawdzie wstępnie badane, jednakże bardzo mała ilość cząsteczek mogła być niewykrywalna i wirus ulegał namnażaniu.

Tabela 1

Liczebność roślin poszczególnych odmian chmielu uzyskanych w pierwszym etapie badań

Grupy roślin	Odmiana chmielu				
	Iunga	Magnum	Sybilla	Lubelski	Razem
Rośliny uzyskane z merystemów	270	261	203	286	1020
Rośliny porażone przez HpMV	8	5	2	35	50
Rośliny porażone przez ApMV	3	1	2	12	18
Rośliny porażone przez HLVd	2	7	6	3	18
Rośliny zdrowe (mateczne)	257	248	193	236	934

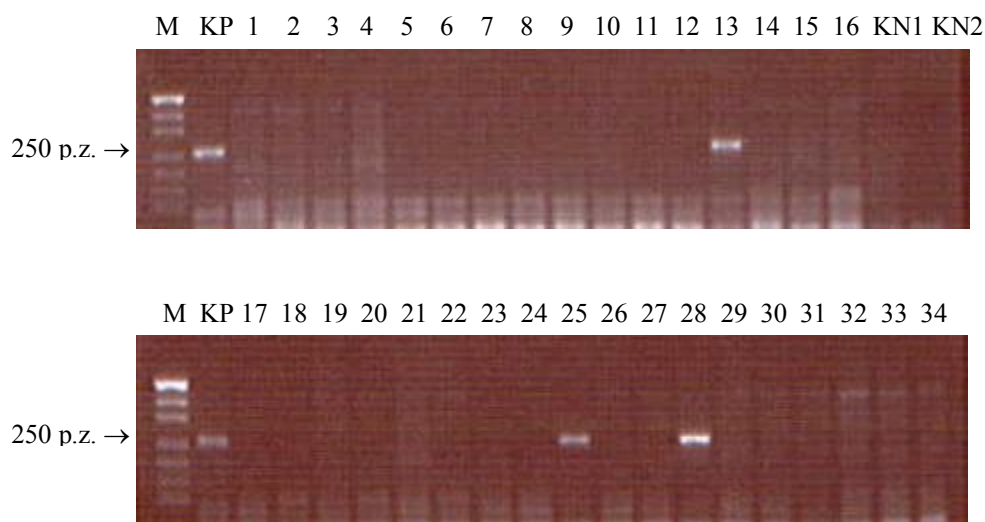
Źródło: Wyniki badań własnych.



Rys. 1. Sposób uzyskiwania zdrowych sadzonek chmielu z wykorzystaniem kultur *in vitro*

Źródło: Dokumentacja własna.

Obecność wiroida utajonego wykryto u 18 roślin spośród 1020 badanych w pierwszym etapie po wysadzeniu do ziemi. Na zdjęciu widoczne prążki, charakterystyczne dla tej samej masy cząsteczkowej produktu jaką posiada wiroid (rys. 2).



Rys. 2. Wykrywanie HLVd za pomocą techniki RT-PCR w próbkach roślinnych

Ścieżki: M – marker wielkości DNA, KP – kontrola pozytywna, KN1 – kontrola negatywna odwrotnej transkrypcji, KN2 – kontrola negatywna PCR, 1-16 – rośliny odmiany Sybilla, 17-21 – rośliny odmiany Iunga, 22-26 – rośliny odmiany Lubelski, 27-34 – rośliny odmiany Magnum  
Źródło: Opracowanie własne.

Obecność wiroida stwierdzano częściej u odmian z mniejszym nasileniem występowania wirusów (Magnum, Sybilla), natomiast rzadziej u odmiany Lubelski, bardziej porażanej przez wirusy.

Uzyskane w tej serii badań zdrowe rośliny stanowiły tzw. rośliny mateczne (nuclear stock), przeznaczone jako materiał wyjściowy do dalszych rozmnożeń. Dalszy wzrost roślin matecznych przebiegał w szklarni o ściśle określonych parametrach.

### Rozmnażanie i uzyskiwanie materiału sadzonekowego

Uzyskanie dobrych sadzonek warunkowane jest jakością i wigorem roślin matecznych, z których pobierane są pędy. Optymalnym materiałem są dobrze wykształcone odcinki pędu długości około 5 cm, z jedną parą liści (jeden węzeł), posiadające w kątach liści pąki śpiące. Ograniczenie powierzchni transpiracji poprzez przycięcie blaszki liściowej ułatwia proces ukorzenia (rys. 3 i 4).

Traktowanie przyciętych pędów odpowiednio dobranymi auksynami poprawia proces ryzogenezy, podobnie jak odpowiednie podłoże. Do ukorzenia sadzonek chmielu stosowano standardowy ukorzeniacz, dostępny w sklepach ogrodniczych. Mieszanka



Rys. 3. Cięcie pędów i przygotowanie do ukorzenia

Źródło: Dokumentacja własna.



Rys. 4. Fragment pędu z przy-  
ciętymi liśćmi i widocznymi  
pąkami śpiącymi

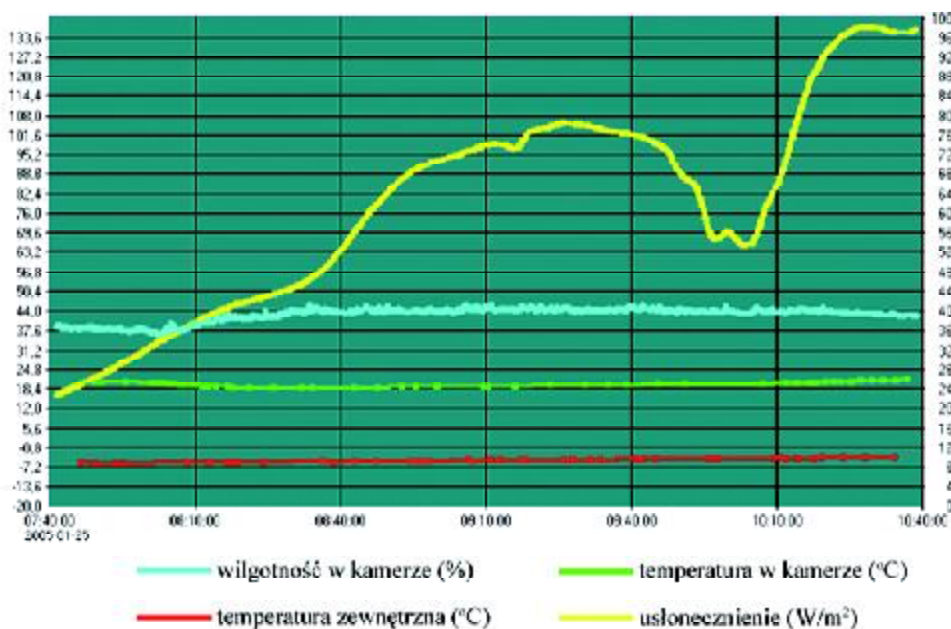
Źródło: Dokumentacja własna.

podłoża warzywnego i perlitu w stosunku 3 : 1 dała dobre efekty. Przy utrzymywaniu temperatury około 25°C okres ukorzenia wynosił 3-5 tygodni. Ważnym elementem jest zapewnienie odpowiedniej wilgotności. Przez pierwsze dwa tygodnie sadzonki były utrzymywane pod przykryciem i codziennie zraszane. W tym czasie pojawiały się pierwsze korzenie i pędy. Gdy system korzeniowy przerastał całe podłoże, a pędy osiągały długość 10-20 cm, rośliny przesadzano do większych doniczek. Efektywność ukorzenia sadzonek zielnych wynosiła 85-90%. Z każdej rośliny matecznej uzyskiwano od kilku do kilkunastu sadzonek.

Bardzo ważnymi czynnikami wpływającymi na właściwy proces ukorzenia, jak też wzrost i rozwój sadzonek są odpowiednie warunki szklarniowe (wilgotność, temperatura, usłonecznienie). Przykładowy obraz takich warunków przedstawia wykres tych danych rejestrowanych przez system komputerowy (rys. 5).

W takich warunkach, nawet zimą, pomimo niskiej temperatury na zewnątrz wzrost sadzonek przebiegał dobrze. Dobre wyniki uzyskano też dzięki utrzymywaniu określonej długości dnia. Rośliny w różnych fazach wzrostu wymagają odpowiednich warunków termicznych, wodnych i świetlnych (tab. 2).

Dla sadzonek będących w okresie ukorzenia stosowano wyższą temperaturę, ponadto przy dużym usłonecznieniu stosowano częściowe lub całkowite zacielenie. Odpowiednią temperaturę dla poszczególnych grup roślin, w zależności od warunków zewnętrznych, utrzymywano poprzez programowany system ogrzewania, cieniowa-



Rys. 5. Parametry w kamerze z ukorzenionymi sadzonkami chmielu w godzinach 7<sup>40</sup>-10<sup>40</sup>  
 Źródło: Opracowanie własne.

Tabela 2

Optymalne parametry w warunkach szklarniowych dla poszczególnych grup roślin

Parametry	Sadzonki ukorzeniane	Sadzonki ukorzenione	Rośliny mateczne po okresie jarowizacji		
			bezpośrednio	po 10 dniach	po 20 dniach
Długość dnia (h)	12	12	8	8	12
Temp. dnia (°C)	24	22	10	18	20
Temp. nocy (°C)	22	18	10	18	20
Nawadnianie	ręczne	zalewowe	brak	wg potrzeb (ręczne)	kropelkowe (50 ml/dobę)

Źródło: Wyniki badań własnych.

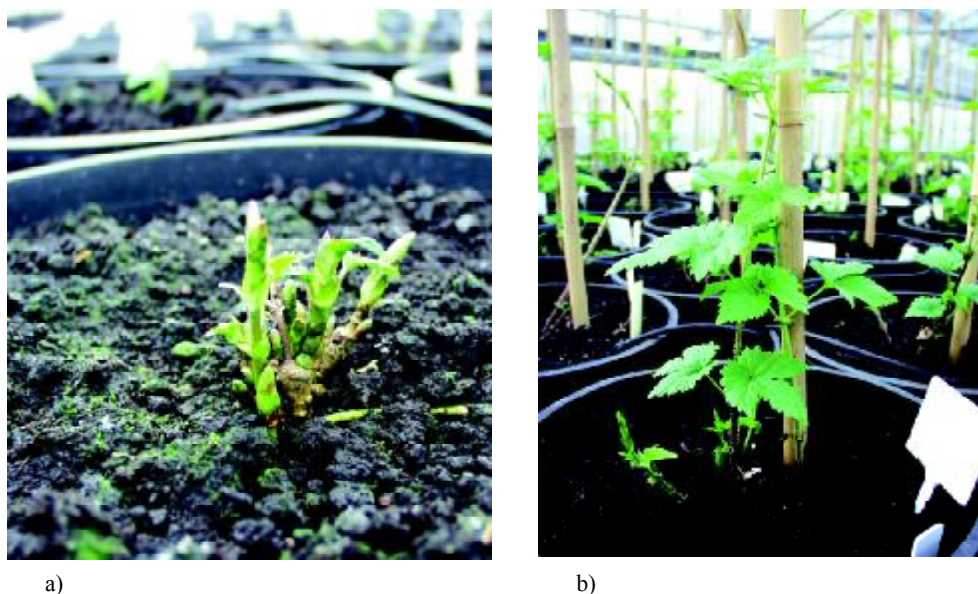
nia i otwierania okien. Dostosowywano też system nawadniania połączony z nawożeniem.

Chmiel do prawidłowego rozwoju wymaga procesu jarowizacji, polegającej na działaniu niskiej temperatury przez pewien okres. Warunkuje to dobry rozwój pędów o odpowiedniej grubości, zdolnych do asymilacji i co istotne, przy pozyskiwaniu sadzonek, do utworzenia silnego systemu korzeniowego. W warunkach naturalnych jarowizacja odbywa się na plantacji w okresie zimowym. Zbliżone warunki zastosowano przy uzyskiwaniu sadzonek w szklarni. Po ścięciu części nadziemnej ograniczono podlewanie i obniżono temperaturę w kamerach. Następnie rośliny mateczne, jak też niektóre sadzonki wymagające zimowania wynoszono na zewnątrz, na specjalnie przygotowane podłoże, zabezpieczając je jednocześnie przed nadmiernym spadkiem temperatury w bryle korzeniowej. Po okresie spoczynku i ponownym przeniesieniu do szklarni stosowano określone parametry (tab. 2). Początkowo utrzymywano krótki dzień i niską temperaturę, a w miarę adaptacji roślin wydłużano dzień i podwyższano temperaturę oraz rozpoczynano nawadnianie roślin. Dobór sposobu nawadniania warunkowany jest przez stadium wzrostu rośliny oraz wielkość sadzonek i ich liczebność. Dla roślin matecznych rosnących w dużych wazonach stosowano nawadnianie kropelkowe (rys. 6a), zaś młode sadzonki stojące w dużym zagęszczeniu nawadniano metodą zalewową. Chmiel jest rośliną pnącą, toteż nieodzownym warunkiem przy utrzymywaniu roślin matecznych, jak też przy wzroście młodych sadzonek jest stosowanie przewodników (rys. 6b).

### Zabiegi pielęgnacyjne i utrzymanie zdrowotności

Dla prawidłowego rozwoju roślin matecznych, stanowiących materiał wyjściowy dla uzyskiwania sadzonek, jak też do wzrostu sadzonek, wymagany jest odpowiedni stan odżywienia. Systematyczne nawożenie makro- i mikroelementami zapewniało dobrą kondycję roślin. Nawożenie NPK było aplikowane poprzez kropelkowy system nawadniający w przypadku roślin matecznych oraz systemem zalewowym dla sadzonek. Mikroelementy dawkowano w postaci oprysków wieloskładnikowymi nawozami dolistnymi, które stosowano co 10-15 dni w zależności od tempa wzrostu roślin. Po-





a)

b)

Rys. 6. Rozwój pędów u roślin matecznych chmielu; a) bezpośrednio po okresie jarowizacji, b) w okresie naprowadzania roślin na przewodniki

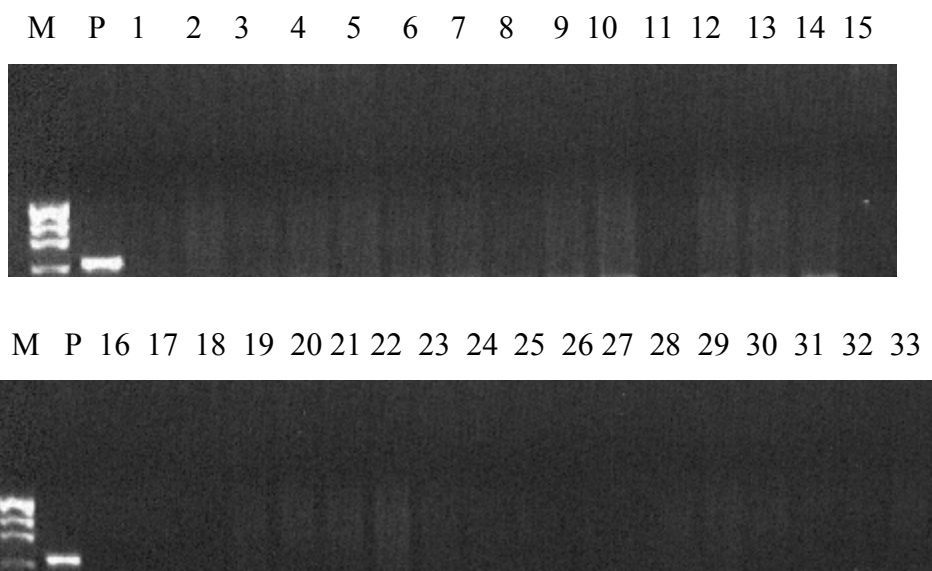
Źródło: Dokumentacja własna.

nadto stosowano preparat stymulujący wzrost po cięciu roślin matecznych oraz po przesadzeniu ukorzenionych sadzonek do doniczek.

Utrzymanie zdrowotności sadzonek uwolnionych od wirusów i wiroida utajonego jest niezwykle ważnym elementem na każdym etapie ich uzyskiwania. Rośliny chmielu wolne od patogenów nie posiadają cechy odporności warunkowanej genetycznie, co oznacza, że bardzo łatwo mogą podlegać wtórnej infekcji. Aby uniknąć przeniesienia wirusa przez owady stosowano zabezpieczenia w postaci siatek ochronnych we wszystkich oknach w szklarni. Dodatkowo prowadzono profilaktyczne zabiegi ochronne przed pojawieniem się szkodników ważnych dla chmielu (mszyca śliwowo-brzoskwiniowa, przędziorek chmielowiec, mączlik szklarniowy). Ochrona materiału matecznego i sadzonkowego obejmowała też zabiegi przeciwko chorobom grzybowym, w szczególności powodowanym przez mączniaka rzekomego i prawdziwego chmielu. Sadzonki będące w trakcie procesu ukorzeniania, przy wysokich parametrach wilgotności sięgającej 100%, dodatkowo chroniono przed szarą pleśnią.

Z uwagi na fakt, że wirusy występujące na chmielu, podobnie jak wiroid utajony, nie dają objawów chorobowych diagnozę materiału matecznego prowadzono systematycznie przed każdorazowym cięciem. Ponadto w sposób losowy diagnozowano wyrosnięte sadzonki. Pozwoliło to na skuteczną eliminację patogenów pojawiających się w pojedynczych roślinach w początkowym etapie prac. Badania serologiczne prowadzone metodą ELISA nie wykazywały obecności wirusów, podobnie badania mo-

lekularne dawały negatywny wynik, świadczący o braku wiroida utajonego w dalszych etapach rozmnażania (rys. 7).



Rys. 7. Analiza molekularna metodą RT-PCR roślin matecznych w kierunku obecności wiroida utajonego chmielu; M – marker wielkości, P – kontrola pozytywna, (1-11 rośliny odmiany Lunga, 12-18 – Lubelski, 19-25 – Sybilla, 26-33 – Magnum)

Źródło: Opracowanie własne.

### Podsumowanie

W wyniku prowadzonych prac uzyskano 337 067 sadzonek czterech odmian chmielu całkowicie wolnych od wirusów i wiroida utajonego oraz od szkodników i chorób grzybowych (tab. 3). Uzyskane w IUNG-PIB zdrowe sadzonki chmielu zostały w całości przekazane plantatorom i wdrożone do uprawy polowej (rys. 8). W celu utrzymania zdrowotności sadzonek w warunkach polowych oraz ich prawidłowego wzrostu i rozwoju na plantacji produkcyjnej opracowano fitosanitarne i agrotechniczne zasady sadzenia (2) oraz sposoby zabezpieczania zdrowych plantacji chmielu przed chorobami wirusowymi (11).

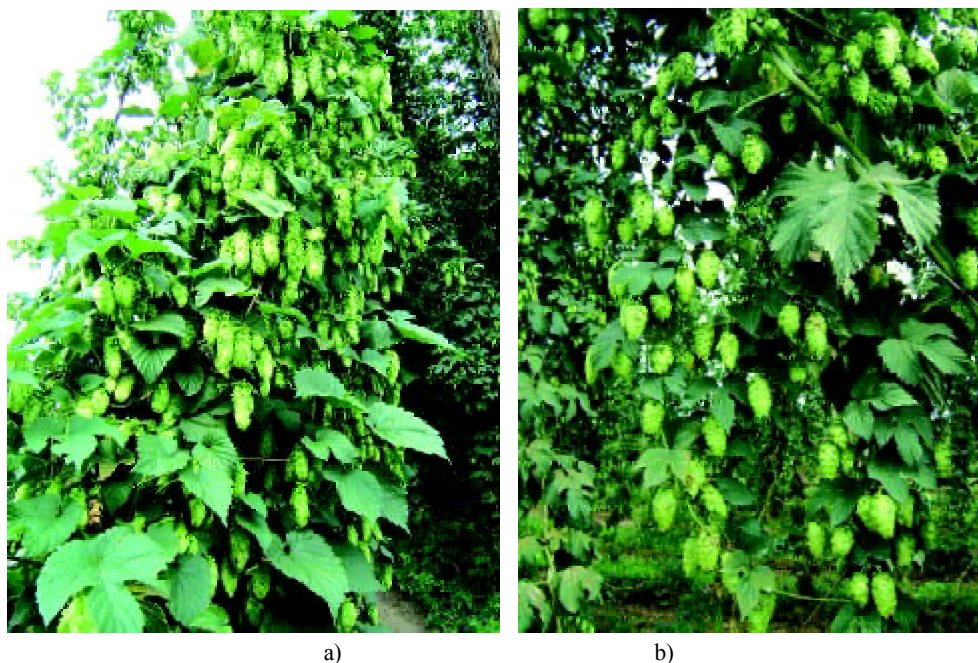
Prowadzone są badania nad monitorowaniem zdrowotności plantacji założonych z sadzonek uwolnionych od patogenów, jak też nad określeniem wpływu zdrowotności na plonowanie i jakość surowca. Wstępne wyniki badań wskazują, że chmiel uwolniony od wirusów i wiroida utajonego charakteryzuje się większą zawartością alfa kwasów oraz lepszym składem olejków eterycznych (badania własne, dane niepublikowane), co świadczy o dużym znaczeniu zdrowotności materiału sadzonkowego.

Tabela 3

Liczba uzyskanych sadzonek chmielu wolnych od wirusów i wiroida utajonego

Odmiana	Liczba sadzonek
Lubelski	22 163
Sybilla	113 228
lunga	96 800
Magnum	104 876
Razem	337 067

Źródło: Opracowanie własne.



Rys. 8. Plantacja chmielu założona na bazie zdrowych sadzonek chmielu odmiany a) Sybilla, b) lunga

Źródło: Opracowanie własne.

## Literatura

1. Clark M. F., Adams A. N.: Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.*, 1977, **34**: 475-483.
2. Dwornikiewicz J.: Fitosanitarne i agrotechniczne zasady sadzenia chmielu. Instr. upowszech., IUNG-PIB, Puławy, 2006, **114**.
3. Grudzińska M., Solarska E., Czubacka A., Przybyś M., Fajbuś A.: Elimination of *Hop latent viroid* from hop plants by cold treatment and meristem tip culture. *Phytopathol. Pol.*, 2006, **40**: 21-30.
4. Kiefer E., Heller W., Ernst D.: A simple and efficient protocol for isolation of functional RNA from plant tissues rich in secondary metabolites. *Plant Mol. Biol. Repr.*, 2000, **18**: 33-39.

5. Krofta K., Kroupa F.: Qualitative indicators of virus-free hops of Czech provenance. Rostlinná Výroba, 1995, **8**: 383-388.
6. Matoušek J., Patzak J., Oriniaková P., Chrástková V., Svoboda P.: Genotype-dependent sensitivity of hop (*Humulus lupulus* L.) to HLVD infection; HLVD sequence stability and its field distribution within Žatec hop collection garden. Proc. Sci. Commission IHGC, 1997, 87-94.
7. Patzak J., Matoušek J., Krofta K., Svoboda P.: Pathogenic effects of HLVD. Proc. Sci. Commission. Canterbury, England, 2001, 52-56.
8. Skomra U.: Nowa odmiana chmielu – lunga. Cz. I. Charakterystyka botaniczna. Przem. Ferm. i Owoc. Warzyw., 2005, **3**: 30.
9. Skomra U.: Wpływ niektórych czynników na wykrywalność HMV i PNRSV w chmielu testem ELISA. Pam. Puł., 2001, **126**: 95-105.
10. Skomra U.: Występowanie wirusów w roślinach chmielu (*Humulus lupulus* L.) na Lubelszczyźnie. Pam. Puł., 2001, **126**: 107-124.
11. Solarska E.: Zabezpieczania zdrowych plantacji chmielu przed chorobami wirusowymi. Instr. upowszech., IUNG-PIB Puławy, 2006, **113**.
12. Voller A., Bartlett A., Bidwell D. E., Clark M. F., Adams A. N.: The detection of viruses by enzyme – linked immunosorbent assay (ELISA). J. Gen. Virol., 1976, **33**: 165-167.

*Prace badawcze związane z uzyskiwaniem zdrowego materiału sadzonkowego zostały wykonane przy finansowym wsparciu Grupy Żywiec.*

Adres do korespondencji:

*doc. dr hab. Teresa Doroszevska*  
*Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin*  
*IUNG-PIB*  
*ul. Czartoryskich 8*  
*24-100 Puławy*  
*tel. 081 886 34 21 w. 216*  
*e-mail: [dorter@iung.pulawy.pl](mailto:dorter@iung.pulawy.pl)*

**Urszula Skomra**

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy  
w Puławach*

## MAĆZNIAK PRAWDZIWY – GROŻNA CHOROBA CHMIELU\*

### Wstęp

Mączniak prawdziwy chmielu znany jest od ponad 200 lat. Początkowo choroba występowała głównie w Anglii i Belgii, gdzie stanowiła poważny problem. Sytuacja uległa zmianie na początku lat 70. ubiegłego stulecia, gdy w Europie wprowadzono do uprawy chmielu angielską odmianę Northern Brewer, charakteryzującą się dużą wrażliwością na tę chorobę (8). W konsekwencji mączniak prawdziwy pojawił się również w innych krajach, takich jak Niemcy (20) i Republika Czeska (17). Obecnie mączniak prawdziwy chmielu występuje we wszystkich rejonach uprawy tej rośliny na świecie, poza Australią i Nową Zelandią. Straty z powodu obniżenia wielkości i jakości plonu oraz zwiększenia kosztów chemicznej ochrony roślin są ogromne. W USA w latach 1999–2000 przekraczały one 30 mln dolarów (13). W Niemczech koszty ochrony plantacji chmielu przed mączniakiem prawdziwym w latach 1998–2003 wahały się od 180 do 350 euro na ha (5).

W Polsce przez wiele lat mączniak prawdziwy chmielu występował sporadycznie i nie wyrządzał większych szkód na plantacjach (16). Nasilenie choroby, które zanotowano pod koniec lat 90. ubiegłego stulecia zbiegło się w czasie z wprowadzeniem do uprawy niemieckiej odmiany Magnum, która charakteryzuje się bardzo dużą wrażliwością na mączniaka prawdziwego (18). Plantacje tej odmiany stały się źródłem infekcji, z którego choroba rozprzestrzeniła się na odmiany rodzime. W Polsce nie ma dokładnych danych dotyczących strat związanych z występowaniem mączniaka prawdziwego, ale można przypuszczać, że choroba ta będzie stanowiła coraz większe zagrożenie z powodu znacznego wzrostu areału odmiany Magnum, charakteryzującej się wysokim potencjałem plonowania i zawartością alfa kwasów, przy jednoczesnym spadku powierzchni uprawy mało podatnej, aromatycznej odmiany Lubelski.

---

\* Opracowanie wykonano w ramach zadania 2.7 w programie wieloletnim IUNG - PIB

### Etiologia i objawy choroby

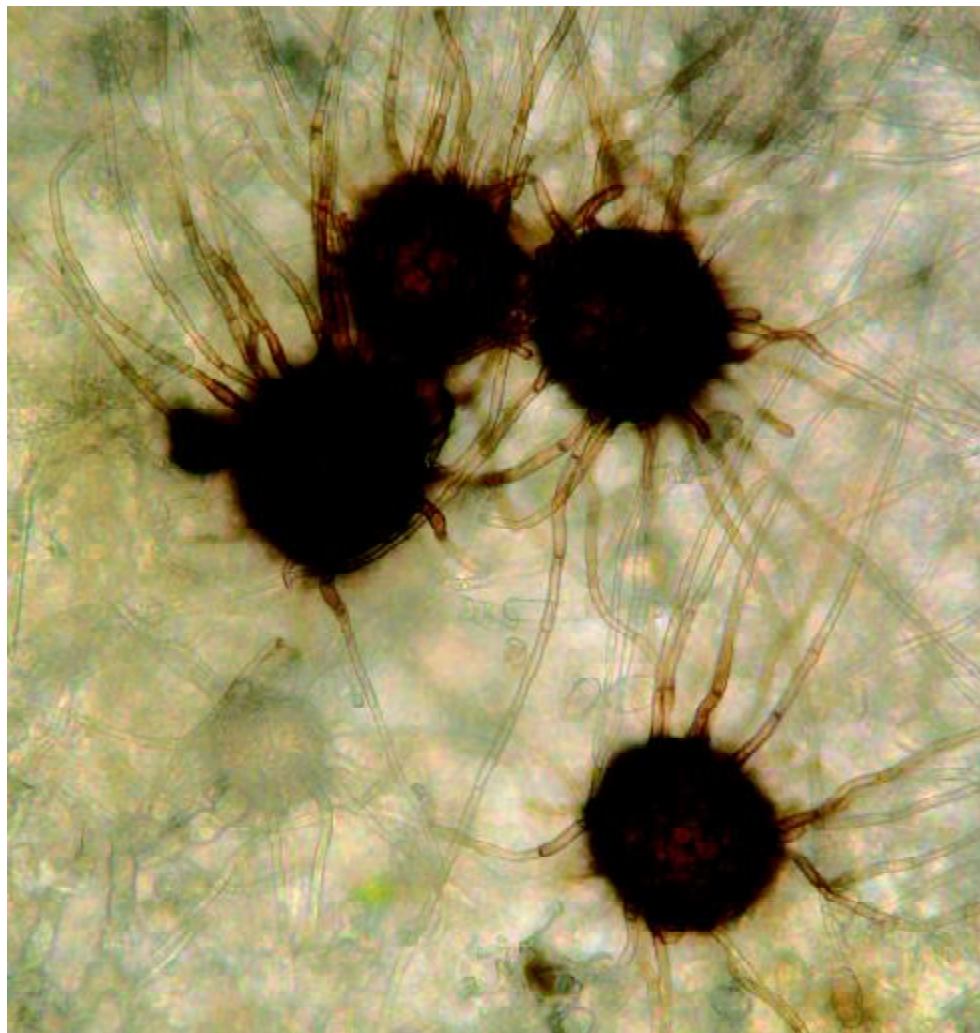
Sprawcą mączniaka prawdziwego jest grzyb *Podosphaera macularis* (Wallr.) należący do gromady workowców (*Ascomycota*). W Europie grzyb ten występuje w stadium konidialnym i workowym, natomiast w USA nie stwierdzono dotychczas występowania stadium workowego (9, 12). Przez większą część okresu wegetacyjnego grzyb występuje w stadium konidialnym, w którym tworzy jednokomórkowe zarodniki konidialne typu oidium. Tworzą się one na trzonkach konidialnych w postaci łańcuszków, w których najbardziej dojrzały zarodnik znajdujący się na wierzchołku odpada i jest przenoszony przez wiatr na inne rośliny (fot. 1). Stadium workowe grzyba tworzy się na przełomie lipca i sierpnia na silnie porażonych liściach lub szyszkach chmielu w postaci kulistych, zamkniętych owocników (otoczni) przytwierdzonych do podłoża za pomocą przyczepki (fot. 2). Przyczepki są długie, podzielone poprzecznymi ścianami, bez rozgałęzień. W otoczni formuje się jeden worek z ośmioma zarodnikami workowymi.

Grzyb zimuje w postaci grzybni wewnątrz pąków, które chronią go przed niekorzystnymi warunkami pogodowymi lub w postaci otoczni, które pozostają na plantacji



Fot. 1. Zarodniki konidialne grzyba *Podosphaera macularis* powodującego mączniaka prawdziwego chmielu

Źródło: Dokumentacja własna.



Fot. 2. Owocniki grzyba *Podosphaera macularis* powodującego mączniaka prawdziwego chmielu  
Źródło: Dokumentacja własna.

na resztkach roślinnych lub na powierzchni gleby i są odporne na działanie niskich temperatur (poniżej  $-20^{\circ}\text{C}$ ) oraz fungicydów (2). Według badań niemieckich (6) głównym źródłem infekcji pierwotnej na plantacjach chmielu w Bawarii są zimujące otocznie grzyba. Porażone pędy wyrastające z pąków, w których patogen zimował w postaci grzybni obserwowano bardzo rzadko, przede wszystkim na plantacjach nieuprawianych. Wysiew zarodników workowych porażających młode liście chmielu następuje w kwietniu (11). Objawy choroby pojawiają się na młodych liściach w postaci białych, mączystych kolonii (fot. 3). Nalot występujący zazwyczaj na górnej powierzchni blaszki liściowej jest utworzony przez skupienia grzybni i zarodników konidialnych.



Fot. 3. Objawy mączniaka prawdziwego na liściach chmielu

Źródło: Dokumentacja własna.

Zarodniki konidialne są łatwo przenoszone przez wiatr, a do kiełkowania nie wymagają obecności wody. W okresie wegetacji dochodzi do licznych infekcji wtórnych, które doprowadzają do szybkiego rozwoju choroby.

*P. macularis* podobnie jak inne mączniaki prawdziwe jest pasożytem bezwzględnie. Do wnętrza komórek skórki wrastają ssawki, przez które stopniowo pobierana jest woda i składniki pokarmowe, co ogranicza wzrost i rozwój porażonych organów. Patogen może porażać wszystkie nadziemne organy roślin chmielu. Najbardziej wrażliwe są młode liście i kwiaty oraz szyszki we wszystkich fazach rozwojowych (19). W liściach dosyć szybko pojawia się odporność związana z wiekiem, dlatego liście starsze niż 15-dniowe nie ulegają porażeniu (22). Porażenie szyszek w początkowym stadium rozwoju prowadzi do zahamowania ich wzrostu, co jest przyczyną znacznych strat plonu, gdyż szyszki takie nie przedstawiają żadnej wartości handlowej. Porażenie szyszek w okresie dojrzewania powoduje ich deformację, co pogarsza jakość plonu (fot. 4). Badania wykazały, że zawartość alfa kwasów w szyszkach silnie porażonych





Fot. 4. Objawy mączniaka prawdziwego na szyszkach chmielu

Źródło: Dokumentacja własna.

jest niższa o ponad 20% w porównaniu ze zdrowymi (tab. 1). Obserwowano również zmniejszenie zawartości olejków chmielowych o 25-50% (10). Jest to zjawisko bardzo niekorzystne, ponieważ alfa kwasy i olejki chmielowe są głównymi składnikami chmielu wykorzystywanymi przez przemysł piwowarski, nadającymi piwu charakterystyczną goryczkę i chmielowy aromat. Zawartość alfa kwasów jest ponadto jednym z elementów kształtujących cenę surowca chmielowego, co wpływa na dochody plantatorów uprawiających tę roślinę.

Tabela 1

Wpływ mączniaka prawdziwego na zawartość alfa i beta kwasów w szyszkach chmielu

Składnik szyszki	Odmiana chmielu					
	Magnum			Żatecki		
	szyszki zdrowe	szyszki z objawami mączniaka prawdziwego	różnica (%)	szyszki zdrowe	szyszki z objawami mączniaka prawdziwego	różnica (%)
Alfa kwasy (%)	15,02	11,99	-20,2	8,32	6,30	-24,3
Beta kwasy (%)	6,39	5,58	-12,7	7,34	6,41	-12,7

Źródło: Krofta K., Nesvadba V., 2003 (10).

## Epidemiologia

Choroba rozprzestrzenia się bardzo szybko, a rozwój epidemii może być gwałtowny, ponieważ grzyb ma zdolność wytwarzania ogromnej liczby zarodników konidialnych. Liczba cykli infekcji wtórnych w ciągu sezonu wegetacyjnego dochodzi do 40, a zarodnikujące kolonie grzyba wytwarzają ponad 3,5 miliona zarodników konidialnych na powierzchni 1 cm<sup>2</sup> (15). Jeśli choroba rozwija się w sposób niekontrolowany straty plonu mogą dochodzić nawet do 100% (15). W USA przeciętne straty powodowane przez mączniaka prawdziwego chmielu na plantacjach produkcyjnych szacuje się na około 15% plonu, a nakłady na ochronę chmielników przed tą chorobą w 2001 r. wynosiły 988 dolarów na ha (12).

Rozwój mączniaka prawdziwego jest uzależniony od przebiegu warunków pogodowych w sezonie wegetacyjnym, dlatego nasilenie epidemii w poszczególnych latach jest zróżnicowane. Badania prowadzone w Niemczech wykazały, że na plantacji kontrolnej, bez ochrony chemicznej, straty plonu wahały się w zależności od roku badań od 0 do 96% (5). Bardzo duży wpływ na rozwój mączniaka prawdziwego chmielu ma temperatura (6, 13, 22). Badania wykazały, że *P. macularis* może rozwijać się w szerokim zakresie temperatury od 12 do 27°C, ale temperatura optymalna waha się w przedziale 18-21°C. W temperaturze 27°C porażenie chmielu było istotnie niższe, natomiast przetrzymywanie inokulowanych roślin w 30°C hamowało zupełnie rozwój choroby (22). Nawet dwugodzinna ekspozycja roślin w temperaturze 30°C obniżała ryzyko porażenia chmielu przez *P. macularis* o 50%, ponieważ w tak wysokiej temperaturze zarodniki konidialne grzyba nie kiełkują (13). Okresy upalne, gdy temperatura powietrza oscyluje w pobliżu 30°C mogą więc przyczynić się do zahamowania rozwoju choroby, co potwierdzają obserwacje polowe prowadzone w USA (12). Czas inkubacji choroby, tj. okres od zakażenia do wystąpienia objawów, wahał się od 10 dni w temperaturze 12-15°C do 5 dni w 18-27°C. Temperatura wpływała również na liczbę kolonii i ich wielkość. W temperaturze 27°C liczba kolonii była istotnie mniejsza, a ich wielkość zmniejszała się już powyżej 21°C (22).

Bezpośrednie promieniowanie słoneczne niszczy zarodniki konidialne i może być czynnikiem ograniczającym rozwój choroby (5). Wpływ promieniowania słonecznego występuje głównie na plantacjach młodych. W drugiej części sezonu wegetacyjnego rośliny chmielu są zazwyczaj mocno rozbudowane i do środka chmielnika dociera światło rozproszone, które z kolei stymuluje rozwój choroby.

Zarodniki konidialne do kiełkowania nie wymagają obecności kropli wody, ale wysoka wilgotność jest warunkiem sprzyjającym. Jednak intensywne opady mogą zmywać zarodniki konidialne z powierzchni liści i w ten sposób ograniczać infekcję (5, 12).

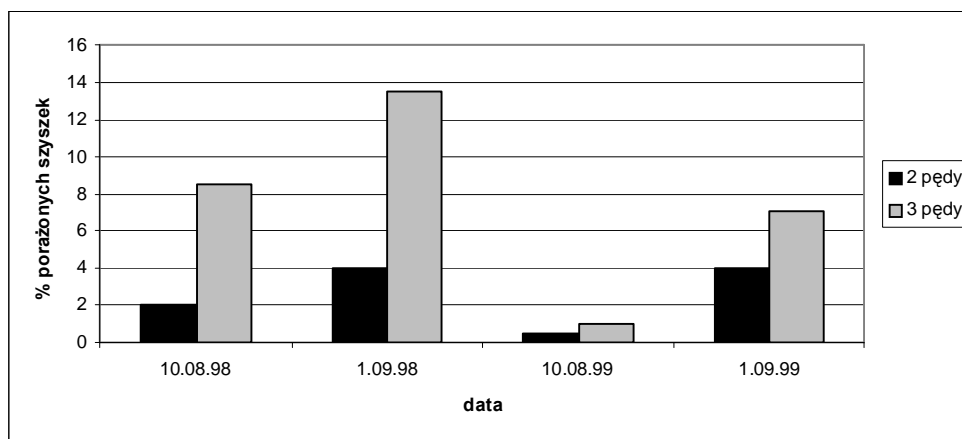
## Zwalczanie

W ochronie chmielu przed mączniakiem prawdziwym stosuje się metody agrotechniczne, chemiczne i hodowlane.

Z metod agrotechnicznych największą rolę odgrywają zabiegi ograniczające ilość inokulum grzyba powodującego infekcję pierwotną w okresie wiosennym. Zapobieganie rozwojowi choroby w początkowym okresie wegetacji wpływa na dalszy rozwój epidemii, stwierdzono bowiem istotny związek pomiędzy występowaniem choroby na liściach a porażeniem szyszek (12). Pierwotnym źródłem infekcji na plantacjach chmielu są zarodniki workowe powstające w otoczeniach zimujących na resztkach roślinnych lub na powierzchni gleby. W ograniczaniu tego źródła infekcji duże znaczenie ma dokładne usuwanie resztek roślin z plantacji lub ich przyorywanie podczas wykonywania wsiewek lub wiosennych zabiegów uprawowych. Drugim źródłem inokulum grzyba na początku sezonu wegetacyjnego są porażone pędy wyrastające z pąków, w których patogen zimował w postaci grzybni. Praktyką powszechnie stosowaną na plantacjach chmielu w krajach europejskich jest wiosenne cięcie karp polegające na usunięciu wszystkich pędów wyrastających z karpy wczesną wiosną, aż do granicy tzw. starego drzewa, czyli wieloletniej części karpy, tak aby pozostał na niej jeden okółek pąków. Podczas wiosennego cięcia karp chmielowych pędy porażone przez *P. macularis* są usuwane, co znacznie ogranicza rozwój choroby (6). W USA, gdzie porażone pędy odgrywają główną rolę jako źródło infekcji pierwotnej, stwierdzono wyraźną zależność pomiędzy starannością wykonania zabiegu cięcia a nasileniem objawów mączniaka prawdziwego na liściach (22).

Duże znaczenie dla rozwoju epidemii mączniaka prawdziwego w sezonie wegetacyjnym ma utrzymywanie odpowiedniego mikroklimatu wewnątrz chmielnika. Nadmierne zagęszczenie roślin utrudnia cyrkulację powietrza, co powoduje wzrost wilgotności i utrudnia dostęp bezpośredniego promieniowania słonecznego. Takie warunki sprzyjają rozwojowi mączniaka prawdziwego. Aby ograniczyć rozwój choroby należy unikać nadmiernego zagęszczenia roślin chmielu na plantacji oraz zwiększania liczby pędów naprowadzanych na jeden przewodnik. Badania prowadzone w Niemczech na odmianie Magnum wykazały, że w przypadku naprowadzania trzech pędów na jeden przewodnik odsetek szyszek z objawami mączniaka prawdziwego był wyższy w porównaniu z występującym w warunkach naprowadzania dwóch pędów na przewodnik (rys. 1); (6). Poprawę cyrkulacji powietrza w chmielniku uzyskuje się również przez pasynkowanie roślin, tj. usunięcie bocznych pędów i liści do wysokości około 0,6 m.

Przeciwko zakażeniom wtórnym w ciągu sezonu wegetacyjnego stosuje się ochronę chemiczną. Do zwalczania mączniaka prawdziwego przeznaczone są przede wszystkim preparaty zawierające siarkę (Ipotar 600 SC, Siarkol Extra 80 WP, Tiotar 80 WP, Tiotar 800 SC). Są to środki o działaniu kontaktowym zalecane przede wszystkim do stosowania zapobiegawczego. Ze środków o działaniu systemicznym do ochrony chmielu przed mączniakiem prawdziwym przeznaczony jest preparat Zato 50 WG. Ochronę plantacji należy rozpocząć w momencie pojawienia się pierwszych objawów choroby na liściach. Szczególną uwagę na mączniaka prawdziwego należy zwrócić w okresie kwitnienia i zawiązywania szyszek chmielu. Kwiaty oraz młode szyszki chmielu są szczególnie podatne na porażenie, a jego skutki w tym okresie mogą być bardzo groźne. W Polsce skuteczną ochronę plantacji zapewnia zazwyczaj przeprowadzenie trzech oprysków: pierwszy na przełomie maja i czerwca, drugi i trzeci w odstępach



Rys. 1. Występowanie objawów mączniaka prawdziwego na szyszkach chmielu odmiany Magnum w zależności od liczby pędów naprowadzonych na jeden przewodnik

Źródło: Engelhardt B. i in., 2001 (6).

2–3-tygodniowych (16). Program ochrony chemicznej chmielu przed mączniakiem prawdziwym w takich krajach, jak Niemcy i USA jest bardziej intensywny i obejmuje wykonanie w ciągu sezonu wegetacyjnego od kilku do kilkunastu zabiegów w odstępach 10–14-dniowych (14). Takie postępowanie zabezpiecza wprawdzie plantacje chmielu przed tą groźną chorobą, ale bardzo podwyższa koszty produkcji. Dlatego prowadzone są prace nad wprowadzeniem systemu prognozowania mączniaka prawdziwego (7, 12). W USA w 2002 r. wprowadzono system prognozowania będący modyfikacją modelu opracowanego dla mączniaka prawdziwego winorośli (12). Potrzebę wykonania oprysku określa się na podstawie indeksu skalkulowanego, biorąc pod uwagę przebieg temperatury i opadów. Wprowadzenie prognozowania w USA przyczyniło się nie tylko do ograniczenia choroby na plantacjach chmielu, ale przyniosło też wymierne korzyści ekonomiczne, bowiem koszty ochrony zmniejszono z 1400 do 740 dolarów na ha (12).

W rozwoju epidemii choroby, obok warunków środowiskowych sprzyjających rozwojowi patogena, kluczowe znaczenie ma obecność rośliny wrażliwej na porażenie gospodarza. Odmiany chmielu różnią się znacznie wrażliwością na mączniaka prawdziwego.

W latach 2001–2007 prowadzono ocenę wrażliwości na mączniaka prawdziwego trzech najpopularniejszych odmian chmielu uprawianych w Polsce. Objawy mączniaka prawdziwego obserwowano na szyszkach w stadium dojrzałości technologicznej. Oceniano odsetek szyszek z objawami choroby oraz stopień ich porażenia według metody opisanej przez Skomrę (21). Najmniej wrażliwa na mączniaka prawdziwego była odmiana Lubelski. Średni współczynnik porażenia tej odmiany był niski i w żadnym roku badań nie przekroczył 5% (tab. 2). Odmiana Marynka charakteryzowała się bardzo dużą zmiennością pod względem występowania objawów mączniaka prawdziwego na szyszkach. W zależności od roku badań odsetek szyszek z objawami

Tabela 2

Występowanie objawów mączniaka prawdziwego na szyszkach odmian chmielu uprawianych w Polsce

Odmiana	Porażenie szyszek (%)		Współczynnik porażenia	
	średnia z lat 2001–2007	zakres zmienności	średnia z lat 2001–2007	zakres zmienności
Marynka	16,6 b*	2,0-23,6	5,0 b	0,5-8,3
Lubelski	9,8 a	4,0-14,8	3,0 a	1,1-5,0
Magnum	22,9 c	18,0-28,4	7,6 c	4,8-12,8
NIR <sub>0,05</sub>	3,9		1,4	

\* dane oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie przy  $\alpha = 0,05$

Źródło: Opracowanie własne.

choroby wahał się od 2 do 23,6%, a współczynnik porażenia od 0,5 do 8,3%. Najwyższy odsetek szyszek porażonych oraz współczynnik porażenia stwierdzono u niemieckiej odmiany Magnum. Dużą wrażliwość tej odmiany chmielu na mączniaka prawdziwego potwierdzają wcześniejsze badania prowadzone w Polsce (21) oraz doniesienia niemieckie (18).

W przypadku niektórych odmian chmielu zostały rozpoznane mechanizmy odporności, a związane z nimi geny są wykorzystywane w hodowli odpornościowej. Odporność na mączniaka prawdziwego jest determinowana przez dominujące, swoiste w stosunku do rasy patogena, geny odporności, z których dotychczas poznano siedem (3, 20). Odporność tego typu często bywa nietrwała, dlatego nieustannie poszukuje się nowych jej źródeł. W przypadku chmielu odporność determinowana przez większość ze znanych genów została przełamana przez nowe rasy patogena (20). Wyjątek stanowi gen R2 występujący w angielskiej odmianie chmielu Wye Target, który zachowuje efektywność w warunkach polowych od ponad 30 lat (1, 20). O roli mączniaka prawdziwego w uprawie chmielu świadczy fakt, że odporność na tę chorobę została włączona do programów hodowli nowych odmian w czołowych ośrodkach chmielarskich (4, 18). Prace nad hodowlą odpornych odmian chmielu prowadzone są również w IUNG-PIB w Puławach.

## Literatura

1. D a r b P.: The assessment of partial resistance to powdery mildew disease in hops. *Plant Pathology*, 1989, **38**: 219-225.
2. D a r b y P.: The symptoms and biology of hop powdery mildew. Presentations from the U.S. Hop Industry Join Meeting, Yakima, Washington, 19-23 Jan. 1998. [www.scisoc.org/hpmes/darby.htm](http://www.scisoc.org/hpmes/darby.htm)
3. D a r b y P.: Single gene traits in hop breeding. *Proc. Sci. Commission IHGC, Canterbury, Kent*, 5-7 Aug., 2001, 76-80.
4. D a r b y P.: The assessment of resistance to diseases in the UK breeding programme. *Proc. Sci. Commission IHGC, George, South Africa*, 20-25 Feb., 2005, 7-11.
5. E n g e l h a r d B.: The impact of weather conditions on the behaviour of powdery mildew in infecting hop (*Humulus*). *Acta Hort.*, 2005, **668**: 111-116.

6. Engelhard B., Goldbrunner C., Seigner E.: Investigation on biology of hop powdery mildew (*Sphaerotheca humuli*) as a basis for specific strategies of control. Proc. of Technical Commission IHGC, Canterbury, England, 6-10 Aug., 2001, 30-46.
7. Engelhard B., Kammhuber K., Huber R., Lutz A., Hesse H.: Development and testing of a forecasting model for powdery mildew (*Podosphaera macularis*) in Bavarian hops. Proc. Tech. Commission IHGC, Lanzhou City, P.R. China, 25-31 July, 2005, 18-21.
8. Hop Powdery Mildew Electronic Symposium. Powdery mildew, *Sphaerotheca humuli*. Introduction. [www.scisoc.org/hpmes/bk\\_excp1.htm](http://www.scisoc.org/hpmes/bk_excp1.htm)
9. Klein R. E.: Hop powdery mildew in the Yakima Valley. Proc. Tech. Commission IHGC, Yakima, Washington USA, 1998, 5-7.
10. Krofta K., Nesvadba V.: How hop powdery mildew influences the quality of hops and beer? Proc. Sci. Commission IHGC, Dobrna-Žalec, Slovenia, 24-27 June, 2003, 58-62.
11. Liyanage A. de S., Royle D. J.: Overwintering of *Sphaerotheca humuli*, the cause of hop powdery mildew. Ann. Appl. Biol., 1976, **83**: 381-394.
12. Mahaffee W. F., Thomas C. S., Turechek W. W., O'camb C. M., Nelson M. E., Fox A., Gubler W. D.: Responding to an introduced pathogen: *Podosphaera macularis* (hop powdery mildew) in the Pacific Northwest. Online. Plant Health Progress, 2003, doi:10.1094/PHP-2003-1113-07-RV.
13. Mahaffee W. F., Turechek W. W., O'camb C. M.: Effect of variable temperature on infection severity of *Podosphaera macularis* on hops. Phytopathology, 2003, **93(12)**: 1587-1592.
14. Mahaffee W., Turechek W., Thomas C., O'camb C.: Learning to live with hop powdery mildew. Proc. Tech. Commission IHGC, Canterbury, England, 6-10 Aug., 2001, 47-51.
15. Peetz A. B.: Understanding sporulation and dissemination of *Podosphaera macularis*, hop powdery mildew. Thesis for degree of Master of Science. Oregon State University, 23 July 2007, 78.
16. Praca zbiorowa. Poradnik plantatora chmielu. IUNG Puławy, 1996, ss. 315.
17. Rybaček V.: Hop production. Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo 1991, 286.
18. Seigner E., Lutz A., Radic-Miehle H., Seefelder S.: Breeding for powdery mildew resistance in hop (*Humulus L.*): strategies at the Hop Research Center, Huell, Germany. Acta Hort., 2005, **668**: 19-29.
19. Seigner E., Seefelder S., Engelhard B., Hasyn S., Felsenstein F. G.: Infektionspotenzial des echten mehlatius (*Sphaerotheca humuli*) in abhängigigkeit vom entwicklungsstadium des hofpens (*Humulus lupulus*). Gesunde Pflanzen, 2003, **55(2)**: 29-33.
20. Seigner E., Seefelder S., Haugg B., Hesse H., Rösch H., Felsenstein F.: Investigation on the virulence spectrum of hop powdery mildew (*Sphaerotheca humuli*). Proc. Sci. Commission IHGC, Canterbury, Kent, England, 5-7 Aug., 2001, 33-37.
21. Skomra U.: Ocena wybranych odmian chmielu pod względem podatności na mączniaka rzekomego i prawdziwego chmielu. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 2004, **497**: 581-589.
22. Turechek W. W., Mahaffee W. F., O'camb C. M.: Development of management strategies for hop powdery mildew in the Pacific Northwest. Online. Plant Health Progress, 2001. doi:10.1094/PHP-2001-0313-01-RS

Adres do korespondencji:

dr Urszula Skomra  
Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin  
IUNG-PIB  
ul. Czartoryskich 8  
24-100 Puławy  
tel.: (081) 886 34 21  
e-mail: [urszula.skomra@iung.pulawy.pl](mailto:urszula.skomra@iung.pulawy.pl)

**Jerzy Dwornikiewicz, Czesław Pietruch, Jerzy Kozyra**

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy  
w Puławach*

SYSTEM SYGNALIZACJI ZAGROŻENIA PLANTACJI CHMIELU  
PRZEZ MĄCZNIAKA RZEKOMEGO\*

**Wstęp**

Chmielarstwo polskie, podobnie jak inne branże, poddane jest procesowi dostosowywania ekonomicznych celów plantatorów do wymogów ekologicznych i społecznych. W procesie produkcji upowszechnia się nowe elementy oszczędne w zużyciu przemysłowych środków produkcji. Muszą one uwzględniać takie przesłanki, jak wieloletnia uprawa chmielu (20 i więcej lat) w jednym miejscu oraz koncentracja uprawy w niektórych rejonach, często w rejonach krajobrazu chronionego (1).

Duże skupiska plantacji chmielu notuje się na Lubelszczyźnie w rejonach parków krajobrazowych i ich otulin (np. kazimierskiego, wrzelowieckiego, Pojezierza Łęczyńskiego, Roztocza). Tylko w samej gminie Wilków, w zlewni Wisły, uprawia się około 883 ha chmielu, co stanowi około 40% krajowej powierzchni uprawy tej rośliny (1).

Aktualny poziom ochrony chmielu przed mączniakiem rzekomym to:

- stosowanie (średnio) 6 rutynowych oprysków w ciągu sezonu wegetacyjnego,
- zużycie średnio 50 kg fungicydów (np. Miedzian, Curzate, Kupromet) na ha plantacji,
- duże koszty stosowania fungicydów i obciążenie środowiska ich pozostałościami.

W zrównoważonym systemie rolnictwa powstała potrzeba opracowania i upowszechnienia nowoczesnego komputerowego systemu sygnalizacji pojawiania się zagrożenia plantacji chmielu przez mączniaka rzekomego (*Pseudoperonospora humuli* (Miy. and Tak.) Wilson). Może on poprawić efektywność ekonomiczną produkcji chmielu oraz zmniejszyć obciążenie środowiska pozostałościami chemicznych środków ochrony roślin (2).

Celem pracy jest opis programu ProgChmiel, który jest narzędziem wspierającym działania producenta chmielu w ocenie zagrożenia plantacji przez mączniaka rzekomego.

---

\* Opracowanie wykonano w ramach zadania 2.7 w programie wieloletnim IUNG - PIB

## Material

System wspomaganie decyzji ProgChmiel opracowano w latach 2004–2006 w ramach tematu statutowego IUNG-PIB nr 2.25 pt. „Opracowanie komputerowej sygnalizacji zagrożenia plantacji chmielu przez mączniaka rzekomego”. Do jego konstrukcji wykorzystano wyniki badań polowych wykonanych w latach 1999–2003 na plantacjach chmielu w rejonie Wilkowa, największego w Polsce rejonu uprawy chmielu. Idea projektu korespondowała z założeniami tematu „Food quality and safety” realizowanego w ramach 6. Programu Ramowego UE oraz nawiązywała do opracowanego w 1998 roku „Programu ochrony środowiska gmin nadwiślańskich 1999–2010” prowadzonego przez Urząd Wojewódzki w Lublinie. Z inicjatywy IUNG w 1999 roku zakupiono z funduszy WFOŚiGW dla Gminy Wilków automatyczną stację meteorologiczną Campbell CR10 X z przeznaczeniem do perspektywicznego prognozowania wystąpienia mączniaka rzekomego chmielu. W celu określenia zgodności wskazań programu z rzeczywistą potrzebą wykonania oprysku w latach 2004–2006 prowadzono w rejonie Wilkowa, w okresach 5-dniowych, obserwacje zdrowotności roślin chmielu według metody IUNG (7).

### Założenia systemu wspomaganie decyzji

Opracowany program komputerowy ProgChmiel obok automatycznej stacji meteorologicznej jest integralnym komponentem systemu sygnalizacji. W programie wykorzystano opracowany w Instytucie Chmielarskim w Hüll (Niemcy - Bawaria) algorytm do sygnalizacji zagrożenia plantacji chmielu mączniakiem rzekomym (5, 6). Metodę tę walidowano w warunkach czeskich i polskich z wykorzystaniem klasycznych obserwacji meteorologicznych (3, 7). Nowością opracowanego krajowego systemu jest wykorzystanie automatycznej stacji meteorologicznej oraz programu komputerowego.

Algorytm do sygnalizacji zagrożenia ma trzyetapowy (w systemie kroczącym) sposób oceny okresów krytycznych, sprzyjających rozwojowi choroby. W pierwszym etapie na podstawie wskazań automatycznej stacji meteorologicznej obliczany jest dobowy indeks zagrożenia, tzw. mały indeks. Metoda obliczenia tego indeksu przyjmuje różną postać dla dni z opadem atmosferycznym i dla dni bez opadu atmosferycznego:

$$\begin{aligned} \text{a/ dla dni z opadami:} & \quad i = 100 + 10 (t - 15) + 2 (h - 60) + r \\ \text{b/ dla dni bez opadów:} & \quad i = [100 + 10 (t - 15) + 2 (h - 60)] : S \end{aligned}$$

gdzie:

i – mały indeks

t – średnia dobowa temperatura powietrza (°C)

h – średnia dobowa wilgotność względna powietrza (%)

r – suma dobowa opadu atmosferycznego (mm)

S – liczba dni bez opadu atmosferycznego



W drugim etapie wartości indeksu małego są (w systemie kroczącym) sumowane za okres ostatnich pięciu dni, w celu obliczenia tzw. indeksu dużego. W trzecim etapie, w przypadku wystąpienia w kolejnych jedenastu dniach indeksu dużego o wartości krytycznej równej lub większej od 500 pkt. należy wykonać zabieg ochrony roślin.

Taki etapowy sposób obliczania indeksów pogodowych wymagał od plantatorów dużego zaangażowania. Korzystanie z automatycznej stacji meteorologicznej i programu komputerowego ogranicza się do uruchomienia programu i przeanalizowania wygenerowanych przez program ProgChmiel wyników obliczeń lub obrazów wykresów.

### **Funkcjonalność programu ProgChmiel**

Zadaniem programu ProgChmiel jest analiza danych pogodowych, obliczanie indeksów ryzyka i sygnalizowanie potrzeby wykonania zabiegów ochrony chmielu przed mączniakiem. Dane wykorzystywane przez program to godzinowe odczyty: temperatury powietrza na wysokości 2 m, wilgotności względnej powietrza na wysokości 2 m i opadu atmosferycznego.

Program posiada również moduły umożliwiające graficzną prezentację pomiarów ze stacji automatycznej, obliczonych wskaźników oraz wprowadzania do systemu potrzebnych danych o plantacji oraz o datach wykonania zabiegów.

### **Operacyjne wykorzystanie systemu ochrony**

W zwalczaniu choroby ważny jest początkowy okres wzrostu roślin chmielu, kiedy często stwierdza się występowanie tzw. infekcji pierwotnej. W terminie od fazy wybijania pędów do około 20 maja należy prowadzić obserwacje występowania infekcji, według metody podanej przez S o l a r s k ą (7): w trzech do pięciu punktach plantacji należy losowo wytypować po 100 roślin; jeżeli w tym okresie na 100 badanych roślin więcej niż 10 posiada pędy kłosowate należy przeprowadzić oprysk. W dalszych fazach okresu wegetacji chmielu terminy zabiegów powinny być wyznaczane zarówno na podstawie wskazań programu komputerowego, jak i na podstawie obserwacji zdrowotności roślin. Program ProgChmiel zaleca wykonanie zabiegu przeciwko mączniakowi rzekomemu, gdy w okresie 11 kolejnych dni wyznaczony „indeks duży” osiąga lub przekracza wartość 500 pkt.

Równocześnie w strategii ochrony zakłada się bieżącą w okresie wegetacji obserwację plantacji i wykonanie zabiegu, gdy na 100 liściach występuje więcej niż 100 plam lub obserwuje się minimalne porażenie kwiatów względnie szyszek (7).

Może zaistnieć taka sytuacja, że wyznaczony komputerowo indeks nie będzie przez kolejnych 11 dni przekraczał wartości 500 punktów, a na roślinach wystąpią symptomy porażenia, np. wystąpi 100 lub więcej plam na 100 liściach bądź wystąpi minimalne porażenie kwiatów albo szyszek. W takich sytuacjach zaleca się wykonanie zabiegu wyłącznie na podstawie oceny biologicznej. Jeżeli podane warunki nie są spełnione oprysku można nie przeprowadzać.

## Praca z programem ProgChmiel

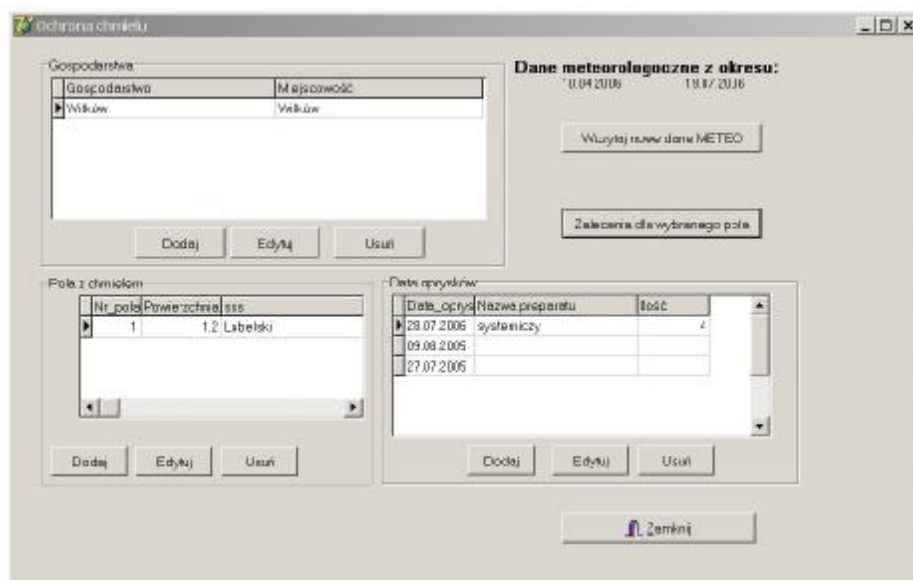
Po uruchomieniu programu pojawia się okno programu do wprowadzenia danych dotyczących gospodarstwa (rys. 1). Panel „Gospodarstwa” służy do zarządzania gospodarstwami obsługiwanyymi przez program. Umożliwia dodanie gospodarstwa do bazy programu, edycję danych dla już wprowadzonego gospodarstwa, a także usuwanie gospodarstwa z bazy programu.

Do panelu „Data oprysków” należy wprowadzić dane dotyczące daty wykonanych zabiegów, rodzaju zastosowanego środka i jego dawki. Dane te umożliwiają rejestrację wykonanych zabiegów na danym polu w wybranym gospodarstwie (rys. 1).

Przycisk „Wczytaj dane METEO” umożliwia pobranie do programu aktualnych danych ze stacji meteorologicznej.

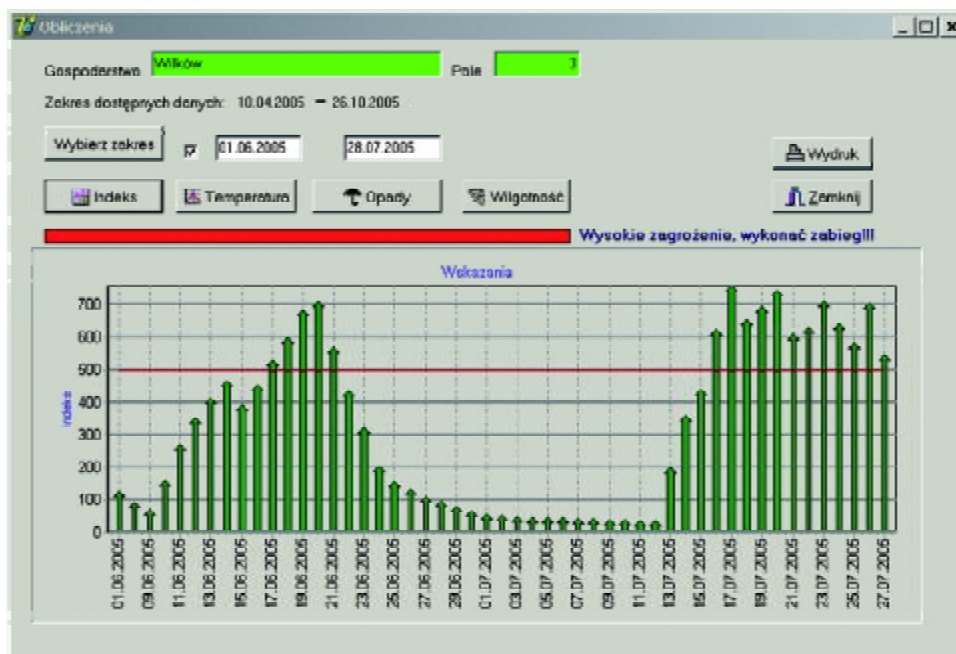
Po wybraniu pola w danym gospodarstwie przyciskiem „Zalecenia dla wybranego pola” uruchamiamy proces obliczania wskaźników niezbędnych do prognozowania wystąpienia choroby na danym polu. Po obliczeniu wskaźników program wyświetla ekran wynikowy (rys. 2). W przypadku wystąpienia ryzyka zdefiniowanego w algorytmie programu pokazuje się komunikat „Wysokie zagrożenie, wykonać zabieg !!! ”.

Program umożliwia również zarządzanie zabiegami na danym polu przez dodanie do bazy danych terminów wykonanych zabiegów (rys. 1). Dodanie do bazy danych terminu wykonanego zabiegu wyznacza datę, od której program ponownie analizuje



Rys. 1. Okno programu ProgChmiel do wprowadzenia danych dotyczących gospodarstwa i chronionych pól oraz wczytania danych meteorologicznych

Źródło: Opracowanie własne.



Rys. 2. Okno programu ProgChmiel z wynikami obliczeń dla konkretnego pola  
Przykład: dnia 27.07.2005 program sygnalizował „Wysokie zagrożenie, wykonać zabieg!!! 11 dni”  
Źródło: Opracowanie własne.

dane meteorologiczne. Po każdorazowym dodaniu daty wykonanego zabiegu należy powtórnie wykonać prognozę zagrożenia.

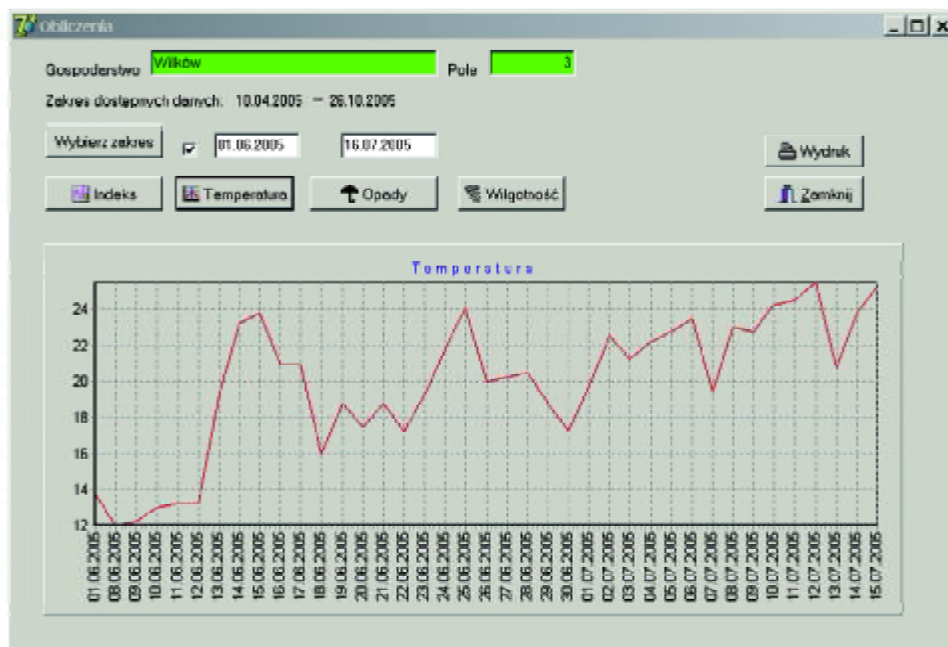
Program umożliwia przeglądanie i analizę z ostatnich 20 dni wartości obliczanych indeksów zagrożenia („Indeks”) oraz przebiegu mierzonych przez stację meteorologiczną parametrów („Temperatura”, „Opady” i „Wilgotność”); (rys. 3).

### Wymagania sprzętowe i instalacja programu

Do uruchomienia systemu ProgChmiel konieczna jest automatyczna stacja meteorologiczna połączona linią przesyłu informacji z komputerem obsługującym program. Może to być samodzielny zestaw (stacja + komputer) zlokalizowany w bezpośrednim sąsiedztwie plantacji lub też stacja przy plantacji chmielu oraz komputer zlokalizowany dalej, ale mający dostęp do danych meteorologicznych, np. dostarczonych na odległość drogą internetową.

Stacja meteorologiczna powinna być zlokalizowana w bezpośrednim sąsiedztwie plantacji chmielu z czujnikami umieszczonymi w łanie roślin, do pomiaru: temperatury na wysokości 2 m, wilgotności względnej powietrza i opadów atmosferycznych.

Program instalacyjny ProgChmiel znajduje się na dysku CD i może być zainstalowany w komputerze z systemem operacyjnym Windows 98, NT, 2000, XP. Wymaga-



Rys. 3. Okno programu ProgChmiel do prezentacji danych meteorologicznych; przykład analizy średniej dobowej temperatury

Źródło: Opracowanie własne.

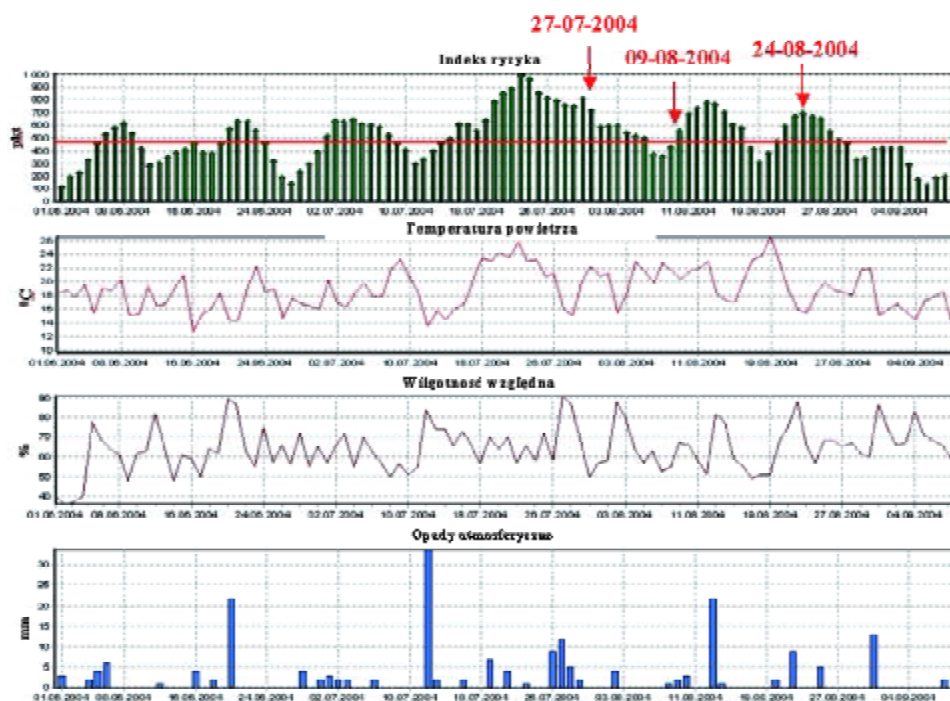
na ilość pamięci operacyjnej wynosi 32 MB, a ilość wolnej przestrzeni na dysku min. 10 MB.

### Wyniki walidacji systemu

W sezonach 2004–2006 analizowano wskazania programu komputerowego na tle szczegółowych obserwacji porażenia liści, kwiatów i szyszek zarodnikami konidialnymi mączniaka rzekomego chmielu. W okresie badań stwierdzono zgodność wskazań programu komputerowego z biologią rozwoju mączniaka rzekomego. W okresie tym dokonywano również korekt kodu i interfejsu komputerowego programu ProgChmiel.

Najbardziej złożonym co do oceny potencjalnego ryzyka wystąpienia choroby w latach 2004–2006 był rok 2004 (rys. 4). W czerwcu i lipcu 2004 roku indeks pogody kilkakrotnie przekraczał wartość progową 500 pkt. Spowodowane to było występowaniem kilku dni z opadem atmosferycznym przy relatywnie niskiej średniej temperaturze powietrza. Zgodnie ze wskazaniem programu w sezonie 2004 wykonano trzy zabiegi ochronne. Potrzebę pierwszego zabiegu w 2004 roku prognozowano na 27 lipca, drugiego na 9 sierpnia, a trzeciego na 24 sierpnia (tab. 1).

W latach 2005 i 2006 obserwowano podobny przebieg pogody związany z wystąpieniem w czerwcu i lipcu suszy, więc wykonano zaledwie po dwa zabiegi ochronne, zgodnie ze wskazaniem programu ProgChmiel (tab. 1); (4).



Rys. 4. Wygenerowane przez program ProgChmiel obrazy wykresów. Przykład roku 2004; linia wyznacza próg 500 pkt., strzałka wskazuje zalecaną datę wykonania zabiegu przeciwko mączniakowi rzekomemu

Źródło: Kozyra J. i in., 2007 (4).

Tabela 1

Liczba zabiegów ochronnych zalecanych przez program ProgChmiel w latach 2004–2006 w porównaniu z liczbą zabiegów wykonywanych tradycyjnie

Sezon wegetacyjny	Liczba zabiegów wg ochrony standardowej	Liczba zabiegów wg programu ProgChmiel	Daty zabiegów wg ProgChmiel
2004	6	3	26-VII, 09-VIII, 24-VIII
2005	6	2	26-VII, 09-VIII
2006	6	2	15-VIII, 25-VIII

Źródło: Opracowanie własne.

Ochrona chmielu według założeń systemu ProgChmiel była tak samo skuteczna, jak przy zastosowaniu ochrony standardowej, kiedy rutynowo wykonywano sześć zabiegów ochronnych. Podczas trwania wdrożenia w latach 2004–2006 nie zaobserwowano różnic w liczbie plam z mączniakiem (na liściach, kwiatach, szyszkach) pomiędzy plantacjami chronionymi standardowo a plantacją chronioną według wskazań programu ProgChmiel.

Uzyskane wyniki potwierdzają możliwość precyzyjnego wyznaczania terminu zabiegu na podstawie analizy danych meteorologicznych, co znacznie ogranicza liczbę wykonywanych zabiegów przeciwko mączniakowi rzekomemu na plantacjach chmielu. Podobny system sygnalizacji (metodologia i sposób graficzny prezentacji wykresów) stosowany jest obecnie na plantacjach niemieckich (8).

### Podsumowanie

Opracowany krajowy system sygnalizacji zagrożenia plantacji przez mączniaka rzekomego ProgChmiel oparty na komputerowej analizie danych meteorologicznych jest nowoczesnym narzędziem wspierającym plantatorów chmielu w ocenie ryzyka wystąpienia choroby na danej plantacji.

Zakłada się, że upowszechnienie komputerowej sygnalizacji pojawiania się zagrożenia chmielników przez mączniaka wpłynie na racjonalne gospodarowanie fungycydami na około 500 ha chmielników w gminie Wilków, zlokalizowanych w promieniu około 7 km od stacji meteorologicznej. Zmniejszy się w ten sposób średnie zużycie fungicydów do ilości zależnej od przebiegu warunków pogodowych, średnio o około 30%. Zakładając, że tradycyjnie wykonuje się 6 rutynowych oprysków używając średnio (w zależności od fazy rozwojowej chmielu) około  $8 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  fungicydu, to roczny efekt ekonomiczny zastosowania systemu sygnalizacji w rejonie Wilkowa można szacować na około 250 tys. zł. Wynika to obliczeń:

$6 \text{ oprysków} \times \text{dawka } 8 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \times \text{śr. } 35 \text{ zł} \cdot \text{kg}^{-1} \times 500 \text{ ha} \times 0,3 \text{ (oszczędność)} = 252000 \text{ zł}$ .

Stosowanie zabiegów ochrony według sygnalizacji komputerowej poprawi opłacalność produkcji i dochodowość indywidualnych gospodarstw chmielarskich. Równocześnie osiągnie się efekt środowiskowy w postaci mniejszego obciążenia pozostałościami fungicydów. W przypadku wykorzystania pilotowej stacji meteorologicznej i programu komputerowego ProgChmiel w rejonie Wilkowa ograniczy się skażenie gleby, wód gruntowych i powierzchniowych w zlewni Wisły. Jako proces ciągły należy traktować podnoszenie świadomości ekologicznej plantatorów.

Komputerowa sygnalizacja wyznaczania okresów krytycznych w zwalczaniu mączniaka rzekomego może być w przyszłości wdrażana również w innych rejonach kraju, charakteryzujących się koncentracją uprawy chmielu (ponad 100 ha), np. w sześciu powiatach woj. lubelskiego (Lublin, Łęczna, Puławy, Świdnik, Krasnystaw, Zamość) oraz w powiatach Nowy Tomysł (woj. wielkopolskie) i Nysa (woj. opolskie).

### Literatura

1. Dwornikiewicz J.: Regionalizacja produkcji chmielu w Polsce. Pam. Puł., 2002, **130/I**: 125-135.
2. Dwornikiewicz J., Jastrzębski A.: Wspomaganie decyzji w technologii uprawy chmielu na poziomie pola i rejonu na przykładzie lubelskiego Powiśla. Pam. Puł., 2001, **124**: 49-57.
3. Fric V. i in.: Pestovani chmele v soudobych ekonomickych podminkach. Chmelarstvi, 1996, **2**: 19-20 oraz **3**: 40-42.
4. Kozyra J., Dwornikiewicz J., Nieróbca A., Pietruch Cz.: Agrometeorologiczny system ochrony plantacji chmielu przed mączniakiem rzekomym (*Pseudoperonospora humuli* Miy. et Tak.). Prz. Nauk. Inż. Kształ. Środ., 2007, **3(37)**: 48-54.
5. Kremheller H. Th.: Untersuchungen zur Epidemiologie und Prognose des Falschen Mehltaus an Hopfen (*Pseudoperonospora humuli* Miy. et Tak.) Wilson. Diss. Techn. Univ. Munchen, 1979.
6. Kremheller H. Th., Diercke R.: Epidemiologie und Prognose des Falschen Mehltaus (*Pseudoperonospora humuli*) an Hopfen. Zeit. Pflanzenkran. Pflanzen., 1983, **6(90)**: 599-616.
7. Solarzka E.: Prognozowanie i sygnalizacja występowania mączniaka rzekomego chmielu. Instr. upow., IUNG Puławy, 1989.
8. TTL Dornburg. Winterschulung 2006 in Höfgen. [www.ttl.de/ainfo/pdf/wsch0107.pdf](http://www.ttl.de/ainfo/pdf/wsch0107.pdf) 20.11.2008

Adres do korespondencji:

*dr Jerzy Dwornikiewicz*  
*Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin*  
*IUNG-PIB*  
*ul. Czartoryskich 8*  
*24-100 Puławy*  
*tel. 081 886 34 21 w. 551*  
*e-mail: [dwornik@iung.pulawy.pl](mailto:dwornik@iung.pulawy.pl)*





**Mieczysław Stasiak**

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy  
w Puławach*

WPLYW METODY ZAKŁADANIA PLANTACJI CHMIELU NA PŁON  
SZYSZEK I ZAWARTOŚĆ ALFA KWASÓW\*

**Wstęp**

Przemysł piwowarski wykazuje duże zainteresowanie nowymi odmianami chmielu, spełniającymi wymagania jakościowe i ekonomiczne. Bazowanie w kraju w dłuższym okresie na dotychczasowych odmianach o niewystarczającym potencjale plonowania i niewielkiej zawartości alfa kwasów jest nieefektywne, stąd istnieje konieczność szybkiej wymiany odmian w chmielnikach.

Na plantacjach produkcyjnych chmiel rozmnażany jest wegetatywnie. Sadzonki pozyskiwane są podczas wiosennego cięcia karp, z tzw. młodego drzewa (6). Są to sadzonki nieukorzenione, tzw. sztobery, wysadzone bezpośrednio na plantację wiosną. Ewentualnie po ich wiosennym wysadzeniu do szkółki uzyskuje się jesienią sadzonki ukorzenione. Metoda zakładania plantacji sadzonkami ukorzenionymi jest korzystniejsza (3), ponieważ sadzonki lepiej się przyjmują, a plantacja o rok wcześniej wchodzi w pełnię plonowania (9).

Mimo zalet metody nasadzeń sadzonkami ukorzenionymi powszechniejszą metodą było nasadzenie sztoberami, gdyż produkcja sadzonek ukorzenionych wymagała dużych nakładów pracy i materiałów związanych z zakładaniem specjalnych szkółek, wymagających całorocznego nadzoru w zakresie pielęgnacji i chemicznego zabezpieczenia przed chorobami i szkodnikami (8).

Obecnie skuteczną metodą produkcji sadzonek, gwarantującą ich wyższą zdrowotność i lepsze przyjęcie na plantacji, jest laboratoryjna metoda rozmnażania roślin metodą kultur tkankowych z merystemów *in vitro* (1) lub z części zielonych pędów roślin. Metoda ta pozwala na otrzymywanie dużej liczby sadzonek z jednej rośliny, a przede wszystkim umożliwia produkcję sadzonek pozbawionych wirusów i wiroidów.

Metoda ta powstała w końcu XX wieku i stosowana jest m.in. z dużym powodzeniem w Czechach (7). Sadzonki odwirusowane pozwalają na uzyskanie znacznie większych plonów chmielu (5). Wskazówki dotyczące wykorzystania tak uzyskiwanych

---

\* Opracowanie wykonano w ramach zadania 2.7 w programie wieloletnim IUNG - PIB

sadzonek podawane są w corocznych zaleceniach (2). W Polsce produkcja sadzonek chmielu tą metodą stosowana jest jedynie w IUNG-PIB w Puławach.

Celem badań było porównanie różnych sposobów wysadzania sadzonek, umożliwiające wybór najbardziej optymalnej metody zakładania plantacji chmielu.

### Material i metodyka badań

Doświadczenie polowe realizowano w latach 2004–2006 w RZD IUNG Kępa (woj. lubelskie) na madzie brunatnej kompleksu pszennego dobrego, klasy bonitacyjnej IIIb. Gleba wykazywała kwaśny odczyn (5,13 pH). Zawartość makroelementów w 100 g gleby (wg metody Egnera-Riehma) wynosiła:  $P_2O_5$  – 10,0 mg,  $K_2O$  – 18,6 mg, Mg – 13 mg. Doświadczenie dwuczynnikowe przeprowadzono metodą split-plot (losowane bloki) z 6 kombinacjami, w 4 powtórzeniach, łącznie 24 poletka, każde o powierzchni 112,5 m<sup>2</sup>. Sadzonki roślin (po 24 szt.) umieszczono co 1,5 m w rzędach o rozstawie 3 m. Pierwszy czynnik stanowił rodzaj sadzonek (sztobry dwuoczkowe, sadzonki ukorzenione i sadzonki doniczkowe rozmnażane wegetatywnie z części zielonych *in vitro*), a drugim czynnikiem był termin sadzenia (sztobry – wiosna 2004 r., sadzonki ukorzenione – jesień 2003 r. i wiosna 2004 r., sadzonki *in vitro* – jesień 2003 r., wiosna 2004 r. i lato 2004 r. W badaniach zastosowano sadzonki nowej odmiany chmielu goryczkowego Iunga.

Wydajność plonu szyszek z poletek określano podczas zbioru chmielu, w pełni dojrzałości technologicznej (druga dekada września). Określano masę świeżych szyszek



Rys. 1. Rodzaje badanych sadzonek

Źródło: Dokumentacja własna.

z pędów owocujących na danym poletku i średnią masę szyszek z rośliny w danej kombinacji, którą przeliczono na plon z hektara (przy obsadzie 2200 roślin). Szyszki zrywano maszyną do zbioru chmielu Allaeys M-22, a suszono w żaluzjowej suszarni chmielarskiej w temperaturze 62°C, w czasie około 8 h, do uzyskania wilgotności poniżej 5% (łamliwość osadki). Masę chmielu surowego z poszczególnych poletek określano na wadze elektronicznej, a wilgotność badano metodą suszarkową według PN-R-50255. Zawartość alfa kwasów określano konduktometrycznie według metody analitycznej EBC 7.5.

Do określenia istotności różnic między kombinacjami wykorzystano test Tukeya przy poziomie ufności  $\alpha = 0,05$ .

### Wyniki badań i dyskusja

W pierwszym roku badań (2004) po wysadzeniu sadzonek nie uzyskano plonu z poletek obsadzonych wiosną sztabami, a z roślin wyrosniętych z sadzonek *in vitro* (sadzenie jesienią i wiosną) uzyskano znikome kilkukilogramowe plony szyszek (tab. 1). Obiekty obsadzone sadzonkami ukorzenionymi jesienią 2003 r. i wiosną 2004 r. plonowały odpowiednio na poziomie 980 i 630 kg · ha<sup>-1</sup> suchej masy szyszek (tab. 2). Natomiast chmiel z sadzonek *in vitro* wysadzanych latem 2004 r., po ich dobrym ukorzeniu, podczas pierwszych zbiorów w 2004 r. plonował prawie dwukrotnie lepiej (1490 kg · ha<sup>-1</sup>) niż z sadzonek ukorzenionych sadzonych wiosną 2004 r. Plon był porównywalny ze średnimi plonami krajowymi uzyskiwanymi na produkcyjnych plantacjach chmielu goryczkowego (ok. 1448 kg · ha<sup>-1</sup>); (4).

Tabela 1

Plon świeżej masy szyszek chmielu z rośliny w zależności od metody i terminu wysadzania sadzonek

Rodzaj sadzonki*	Świeża masa szyszek (kg · roślina <sup>-1</sup> )			
	2004	2005	2006	2007
I	-	0,70	2,21	2,80
III	1,63	4,21	4,23	3,24
V	0,17	2,56	3,97	3,88
II	1,09	3,87	3,98	3,28
IV	2,55	5,27	4,79	3,56
VI	0,35	3,06	4,78	3,84
Średnia	0,96	3,27	3,99	3,43
NIR $\alpha = 0,05$	0,16	0,27	0,25	0,29

\* I – sztabry sadzone wiosną 2004 r.

III – sadzonki ukorzenione sadzone jesienią 2003 r.

V – sadzonki *in vitro* sadzone jesienią 2003 r.

II – sadzonki ukorzenione sadzone wiosną 2004 r.

IV – sadzonki *in vitro* sadzone latem 2004 r.

VI – sadzonki *in vitro* sadzone wiosną 2004 r.

Źródło: Badania własne.

Tabela 2

Plony świeżej i suchej masy szyszek chmielu w zależności od metody i terminu wysadzania sadzonek

Rodzaj sadzonki*	Świeża masa szyszek (t · ha <sup>-1</sup> )				Sucha masa szyszek (t · ha <sup>-1</sup> )			
	2004	2005	2006	2007	2004	2005	2006	2007
I	-	1,56	5,12	6,20	-	0,40	1,35	1,87
III	3,72	9,36	9,40	7,14	0,98	2,46	2,47	2,16
V	0,37	5,73	8,82	8,53	0,10	1,51	2,32	2,34
II	2,42	8,60	8,84	7,20	0,63	2,26	2,32	2,18
IV	5,66	11,67	10,65	7,84	1,49	3,07	2,80	2,37
VI	0,78	6,80	10,63	8,44	0,26	1,79	2,79	2,41
Średnia	2,16	7,29	8,91	7,22	0,58	1,91	2,34	2,26
NIR $\alpha = 0,05$	1,51	1,89	1,90	0,63	0,74	0,50	0,50	0,19

\* oznaczenia jak w tab. 1  
Źródło: Badania własne.

W drugim i trzecim roku badań (2005, 2006) stwierdzono, że największy plon szyszek uzyskały również rośliny rozmnażane wegetatywnie (doniczkowe *in vitro*) sadzone latem – odpowiednio 3070 i 2800 kg · ha<sup>-1</sup>. Chmielnik obsadzony jesienią 2003 r. sadzonkami ukorzenionymi dawał plony w drugim i trzecim roku zbiorów na poziomie zbliżonym – 2500 kg · ha<sup>-1</sup>. Natomiast rośliny wyrosłe ze sztobrów plonowały najgorzej – 400 (2005) i 1350 kg · ha<sup>-1</sup> (2006).

W czwartym roku badań nadal największym plonem cechowały się rośliny z doniczek (sadzonki *in vitro*), niezależnie od terminu sadzenia. Sadzonki ukorzenione plonowały na niższym poziomie (ok. 2170 kg · ha<sup>-1</sup>), a sztobry wydały plon poniżej 2 ton z hektara. Ze wszystkich kombinacji najslabiej plonowały rośliny ze sztobrów sadzonych wiosną 2004 roku, przy czym w kolejnych latach plony miały tendencję wzrostową – brak plonu w 2004 r., a w latach 2005–2007 wzrost plonu z 400 do 1870 kg · ha<sup>-1</sup>.

Zbiór szyszek z sadzonek *in vitro* wysadzonych wiosną 2004 roku w pierwszym roku był nieopłacalny (260 kg · ha<sup>-1</sup>), natomiast w następnych latach uzyskiwano plony zadowalające – od 1790 do 2410 kg · ha<sup>-1</sup>. Sadzonki *in vitro* wysadzane jesienią 2003 r., podobnie jak wysadzane wiosną, w pierwszym roku ukorzeniały się, a dopiero w latach 2005–2007 osiągały efektywny plon – od 1510 do 2340 kg · ha<sup>-1</sup>, który w latach 2005 i 2006 był znacząco mniejszy niż w przypadku sadzonek *in vitro* wysadzanych latem. W trzecim pełnym roku zbiorów (2007) plony z roślin uzyskanych z sadzonek *in vitro* były ponad 10% większe od uzyskanych z sadzonek ukorzenionych i o 20% większe w porównaniu z plonami z sadzonek ze sztobrów.

Analizując zawartość alfa kwasów w szyszkach chmielu pochodzących z poszczególnych nasadzeń należy stwierdzić, że plantacje z sadzonkami doniczkowymi (*in vitro*) mają również najlepszą jakość technologiczną surowca i największe plony we wszystkich latach badań (tab. 3). Duża zawartość składnika alfa w pierwszym roku badań (ponad 13%) była spowodowana sprzyjającymi warunkami agrometeorologicz-

Tabela 3

Zawartość alfa kwasów w szyszkach chmielu w zależności od metody i terminu wysadzania sadzonek

Rodzaj sadzonki*	Zawartość alfa kwasów w suchej masie szyszek (%)			
	2004	2005	2006	2007
I	-	10,03	10,22	10,08
III	13,70	9,94	9,88	10,43
V	14,50	11,42	9,31	11,16
II	13,60	9,50	9,54	10,01
IV	14,70	10,95	10,33	10,97
VI	14,10	10,88	10,14	10,58
Średnia	14,12	10,45	9,90	10,54

\* oznaczenia jak w tab. 1  
 Źródło: Badania własne.

nymi w porównaniu z występującymi w następnych latach (ok. 12%) alfa kwasów. W ostatnim roku badań szyszki chmielu wykazywały wyjątkowo niski współczynnik „ususzki” wynoszący 3,2 w stosunku do wsadu suszarni (normalnie wynosi ok. 4,0), co prawdopodobnie wpłynęło na mniejszą zawartość alfa kwasów poprzez przejęcie przez szyszki procesu odżywiania roślin.

### Wnioski

1. Metoda nasadzeń chmielu sadzonkami *in vitro* wysadzanymi latem umożliwia uzyskiwanie dużych plonów szyszek już w pierwszym roku po założeniu plantacji.
2. Jesienne wysadzanie sadzonek *in vitro* na plantacji jest niekorzystne ze względu na konieczność zabezpieczania sadzonek przed mrozami i słabe plonowanie.
3. Niezależnie od warunków atmosferycznych największą zawartość alfa kwasów miały szyszki chmielu z sadzonek doniczkowych rozmnażanych wegetatywnie – wysadzanych latem i jesienią.
4. Zakładanie plantacji sztoalami nieukorzenionymi jest nieefektywne i opóźnia plonowanie i zwrot poniesionych kosztów.
5. Opracowana metoda *in vitro* pozwala na całoroczną produkcję sadzonek i sprawne wykonywanie corocznych nasadzeń chmielników.

### Literatura

1. Brits G., Linsley-Noakes G. C.: Producing optimal first year yields in hops. International Hop Growers Convention. I.H. G. C. Proc. Sci. Commission, Dobrna-Žalec, Slovenia, 24-27 czerwca 2003.
2. Bayerische Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau. Hopfen, 1999–2006.
3. Dwornikiewicz J.: Fitosanitarne i agrotechniczne zasady sadzenia chmielu. Instr. upowszechn., IUNG-PIB Puławy, 2006, 114.
4. Główny Inspektorat Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych. Raport. Warszawa, 2007.

5. K o p e c k y J.: Praktycke zkusenosti s pripravkem Singeri na UK Steknik. Chmelarstvi, 2006, 2006, **10**: 124.
6. M i g d a l J.: Poradnik plantatora chmielu. IUNG Puławy, 1996, 75-82.
7. T i k a l V.: Možitel'sky a vysadbovy material chmele – 2006. Chmelarstvi, 2007, **1**: 5.
8. W i r o w s k i Z.: Polowa metoda ukorzeniania sadzonek chmielu. Instr. wdroż., IUNG Puławy, 1983.
9. Z u b L.: Wyniki doświadczeń z ukorzenianiem chmielu na skalę produkcyjną. Informator Rolniczy WOPR, Końskowola, 1977.

Adres do korespondencji:

*dr Mieczysław Stasiak*  
*Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin*  
*IUNG-PIB*  
*ul. Czartoryskich 8*  
*24-100 Puławy*  
*tel.: (081) 886 34 21 w. 214*  
*e-mail: [stamie@poczta.fm](mailto:stamie@poczta.fm)*

## WSKAZÓWKI DLA AUTORÓW

W serii wydawniczej „**STUDIA I RAPORTY IUNG-PIB**” publikowane są recenzowane prace z zakresu agronomii i kształtowania środowiska rolniczego, wykonane w ramach zadań programu wieloletniego pn. „Kształtowanie środowiska rolniczego Polski oraz zrównoważony rozwój produkcji rolniczej”. W zeszytach problemowych wydawanych w ramach tej serii mogą być zamieszczane również prace autorów spoza IUNG - PIB, które merytorycznie mieszczą się w tematyce zadań programu wieloletniego. **Publikowane są prace problemowe, głównie mające charakter przeglądowy, z podkreśleniem znaczenia omawianych zagadnień dla rolnictwa polskiego.**

### **Wydruk tekstu do recenzji:**

czcionka 12 p., z odstępem 1,5-wierszowym.

### **Przygotowanie do druku:**

- tekst i tabele w programie Word, wersja 6.0 lub wyższa
- czcionka – Times New Roman
- układ pracy: wstęp, wyniki i dyskusja bądź omówienie wyników, podsumowanie, literatura

### **tekst**

- czcionka – 11 p. (spis pozycji literatury – 9 p.)
- wcięcie akapitowe – 0,5 cm

### **tabele**

- podział na wiersze i kolumny (z funkcji tworzenia tabel)
- szerokość dokładnie 13 cm (tabele w pionie) lub 19 cm (tabele w poziomie)
- czcionka 9 p., pojedyncze odstępy międzywierszowe
- umieszczone w oddzielnych plikach
- pod tabelą przypis ze wskazaniem źródła danych (autorstwa)

### **rysunki**

- czarno-białe
- wykresy w programie Word lub Excel
- wymiary w zakresie 12,5 cm × 18,5 cm
- dołączony wydruk w odpowiednich wymiarach, bardzo dobrej jakości, na białym papierze lub na folii
- w podpisach czcionka 9 p.
- na dyskietce w oddzielnych plikach
- pod rysunkiem przypis ze wskazaniem źródła danych (autorstwa)

### **jednostki miary**

- system SI
- jednostki zapisywać potęgowo (np. t · ha<sup>-1</sup>)

### **literatura**

- spis literatury na końcu pracy w układzie alfabetycznym wg nazwisk autorów, w kolejności: nazwisko (pismo rozstrzelone), pierwsza litera imienia, tytuł pracy, miejsce publikacji: tytuł wydawnictwa (wg ogólnie przyjętych skrótów tytułów czasopism), rok, numer (pismo pogrubione), strony
- cytowanie w tekście – jako numer pozycji ze spisu literatury (w nawiasach okrągłych) lub dodatkowo z nazwiskiem autora (pismo rozstrzelone).

Pracę do recenzji należy składać w 2 egzemplarzach. Po recenzji oryginalny egzemplarz recenzowany i ostateczną wersję pracy, uwzględniającą uwagi recenzenta i redaktora, składać do Redakcji w 1 egzemplarzu i na dyskietce lub przesłać e-mailem na adres:

Dział Upowszechniania i Wydawnictw IUNG-PIB  
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy  
e-mail: [imarcinkowska@iung.pulawy.pl](mailto:imarcinkowska@iung.pulawy.pl)

W serii wydawniczej „**RAPORTY PIB**”, a od 2007 r. „**STUDIA I RAPORTY IUNG - PIB**” ukazały się następujące pozycje:

1. *Wybrane aspekty agrochemicznych badań gleby*. Puławy, 2006.
2. *Zasady wprowadzania nawozów do obrotu*. Puławy, 2006.
3. *Regionalne zróżnicowanie produkcji rolniczej w Polsce*. Puławy, 2006.
4. *Monitoring skutków środowiskowych planu rozwoju obszarów wiejskich*. Puławy, 2007.
5. *Sprawdzenie przydatności wskaźników do oceny zrównoważonego gospodarowania zasobami środowiska rolniczego w wybranych gospodarstwach, gminach i województwach*. Puławy, 2007.
6. *Możliwości rozwoju rolnictwa ekologicznego w Polsce*. Puławy, 2007.
7. *Współczesne uwarunkowania organizacji produkcji w gospodarstwach rolniczych*. Puławy, 2007.
8. *Efektywne i bezpieczne metody regulacji zachwaszczenia, nawożenia i uprawy roli*. Puławy, 2007.
9. *Wybrane elementy technologii produkcji roślinnej*. Puławy, 2007.
10. *Problem erozji gleb w procesie przemian strukturalnych na obszarach wiejskich*. Puławy, 2008.
11. *Uprawa roślin energetycznych a wykorzystanie rolniczej przestrzeni produkcyjnej w Polsce*. Puławy, 2008.
12. *Wybrane zagadnienia systemów informacji przestrzennej i obszarów problemowych rolnictwa w Polsce*. Puławy, 2008.

Publikacja dostępna na stronie <http://iung.pulawy.pl/> pod hasłem Wydawnictwa.