

**Podsumowanie<sup>1</sup> Ekspresowej Oceny Zagrożenia Agrofagiem dla**

***Citrus bark cracking viroid***

**Obszar PRA:** Rzeczpospolita Polska

**Opis obszaru zagrożenia:** Uprawy chmielu we wszystkich rejonach Polski (głównie lubelskie, wielkopolskie)

Główne wnioski:

Wystąpienia CBCVd na chmielu na Słowenii stanowi dowód na to, że wiroid może zostać rozprzestrzeniony pomiędzy różnymi gospodarzami. Niekorzystny wpływ CBCVd na uprawy chmielu jest bardzo duży (zahamowania wzrostu w pierwszym roku po infekcji, całkowite zamieranie w ciągu 3-5 lat). W przypadku wprowadzenia CBCVd do Polski, straty w uprawie chmielu mogą być wysokie. Wprowadzenie CBCVd na obszar PRA odbywa się poprzez import i sprzedaż owoców cytrusowych. Zakres importu jest wysoki, ale ze względu na fakt, że większość odpadów trafia na uregulowane prawnie, miejskie wysypiska śmieci, wiroid nie ma możliwości rozprzestrzenienia się na inne rośliny. W przypadku niewłaściwego przetworzenia odpadów z cytrusów istnieje duże ryzyko przeniesienia wiroida na chmiel. Ponadto specyfika uprawy chmielu (rozmnażanie wegetatywne, duża ilość resztek roślinnych na polu) zwiększa ryzyko rozprzestrzenienia CBCVd.

Ochrona roślin przed wiroidami polega przede wszystkim na systematycznej kontroli materiału rozmnożeniowego sprowadzanego do kraju i rozprzestrzeganego w Polsce, na likwidowaniu zainfekowanych roślin oraz stosowaniu środków higieny. Konieczne wydaje się również stosowanie certyfikowanego materiału rozmnożeniowego wolnego od CBCVd. Na obszarach zakażonych i zagrożonych zakażeniem, ważnym środkiem ochrony jest systematycznie badanie, kontrolowanie plantacji, które pozwoli na wczesne wykrycie choroby.

<b>Ryzyko fitosanitarne na zagrożonym obszarze.</b> <i>(Indywidualne oceny prawdopodobieństwa przeniknięcia i zasiedlenia oraz wielkości rozprzestrzenienia i wpływu dostarczone w treści dokumentu)</i>	wysokie	<b>X</b>	średnie	<input type="checkbox"/>	niskie	<input type="checkbox"/>
<b>Poziom niepewności oceny</b> <i>(patrz Q 17 w celu uzasadnienia oceny. Indywidualne oceny niepewności przeniknięcia, zasiedlenia, rozprzestrzenienia i wpływu dostarczone w treści dokumentu)</i>	wysoka	<input type="checkbox"/>	średnia	<input type="checkbox"/>	niska	<b>X</b>

**Inne rekomendacje:**

- Kontrola materiału rozmnożeniowego sprowadzanego do Polski.
- Kontrola materiału rozmnożeniowego rozprowadzanego na terenie upraw w Polsce.
- Monitoring mateczników i plantacji chmielu pod kątem występowania wiroidów.
- Uregulowanie ustawodawstwa mającego na celu ograniczenie występowania wiroidów na terenie Polski i całej Unii Europejskiej
- Regulacje prawne – obiekt kwarantanny w uprawie chmielu.

<sup>1</sup> Podsumowanie powinno być wykonane po analizie ryzyka

## **Ekspresowa Ocena Zagrożenia Agrofagiem (*Express PRA*):**

### ***Citrus bark cracking viroid (CBCVd)***

**Przygotowane przez:** dr hab. Natasza Borodynko-Filas, prof. nadzw IOR-PIB, dr hab. Beata Hasiów-Jaroszewska, prof. nadzw IOR-PIB, mgr Julia Minicka, mgr Michał Czyż, mgr Magdalena Gawlak, dr Tomasz Kałuski,

**Data:** 14.10.2016

## **Etap 1. Wstęp**

### **Powód wykonania PRA:**

Polska jest piątym co do wielkości producentem chmielu w Unii Europejskiej wraz ze Słowenią, Niemcami, Anglią i Czechami. Uprawa obejmuje 1423,6 ha powierzchni (dane Inspekcji Jakości Artykułów Rolno-Spożywczych na dzień 30.06.2015). Światowa produkcja chmielu w roku 2015 wyniosła 50 tysięcy hektarów w 19 krajach, w tym 27 tysięcy ha w UE (13 krajów).

*Citrus bark cracking viroid (CBCVd)* jest szeroko rozpowszechniony w rejonach uprawy cytrusów, co powoduje, że przypuszczalnie występuje również na tych roślinach/owocach w Polsce. Dotychczas jednak nie potwierdzono w Polsce jego obecności ani na chmielu, ani na roślinach cytrusowych.

W roku 2007 na Słowenii, w uprawach chmielu, w regionie Šempeter w Dolinie Savinja (po raz pierwszy na terenie Unii Europejskiej), stwierdzono wystąpienie nieznanej dotychczas, agresywnej choroby, powodującej silne zahamowanie wzrostu roślin na plantacjach chmielu. W roku 2011, po przeprowadzonej diagnostyce, stwierdzono występowanie *Hop stunt viroid (HSVd)* (Radisek i wsp. 2012), który został wcześniej opisany jako patogen w uprawach chmielu (Sasaki i Shikata 1977a, b) powodujący silne zahamowania wzrostu (Eastwell i Sano 2009; Sano 2003a, b, c). Ze względu na wystąpienie objawów chorobowych w ciągu około 4 miesięcy (Jakše i wsp. 2014), zamiast opisywanych wcześniej 3-5 lat (Eastwell i Sano 2009; Sano 2003a,b,c), podjęto dalszą diagnostykę z zastosowaniem nowoczesnych technik molekularnych. Wykorzystując sekwencjonowanie nowej generacji (głębokie) (Next Generation Sequencing, NGS) potwierdzono wystąpienie nowego wiroida w uprawie chmielu – CBCVd. Był on dotychczas uznawany wyłącznie za patogena roślin cytrusowych (Semancik i Vidalakis 2005).

W tym samym czasie stwierdzono również, że przyczyną wystąpienia silnych objawów chorobowych na roślinach chmielu jest CBCVd, który przypuszczalnie wykazuje działanie antagonistyczne w stosunku do HSVd. CBCVd został opisany jako ekonomicznie mniej znaczący wiroid cytrusowy, który występuje wyłącznie w krajach i rejonach, gdzie uprawiane są cytrusy. Wyniki otrzymane na Słowenii po raz pierwszy wykazały obecność CBCVd na chmielu oraz jego szkodliwy wpływ na wzrost roślin, a także poszerzyły zakres rejonu w którym wiroid może występować.

W roku 2014 wiroid został wykryty na 13 słoweńskich plantacjach chmielu.

**Obszar PRA:** *Rzeczpospolita Polska*

## **Etap 2. Ocena Ryzyka Zagrożenia Agrofagiem**

### **1. Taksonomia:**

Królestwo: Wirusy i wiroidy

Rodzina: *Pospiviroidae*

Rodzaj: *Cocadviroid*

## 2. Przegląd informacji o agrofagu:

- **Informacje ogólne:**

CBCVd należy do mniej rozpoznanych wiroidów. Po raz pierwszy został opisany w 1988 roku przy opisywaniu chorób roślin cytrusowych w próbkach z Kalifornii i nazwany *Citrus viroid IV* (CVD IV) (Duran-Vila i wsp. 1988). Trzy lata później została opublikowana jego pełna sekwencja nukleotydów, w trakcie badań karłowatych drzew grejpfruta pochodzących z Izraela (Puchta i wsp. 1991). CBCVd składa się z kolistej cząsteczki RNA wielkości od 283 do 286 pz.

Taksonomicznie CBCVd należy do rodzaju *Cocadviroid*, do którego należy również *Hop latent viroid* (HLVd) powszechnie obecny na polskich uprawach chmielu; pod pewnymi względami jest też podobny do wiroidów z rodzaju *Pospiviroid* (Semanchik i Vidalakis 2005). Występuje powszechnie w krajach gdzie uprawiane są cytrusy (Vernière i wsp. 2004; 2006) i jest jednym z wiroidów powodujących redukcję wzrostu owoców cytrusowych. Wykrycie CBCVd na chmielu oznacza poznanie zupełnie nowego gospodarza tego wiroida, wykazującego dużą podatność na zakażenie.

- **Cykl życiowy:**

Wiroidy, podobnie jak wirusy, są pasożytami bezwzględnyymi, co oznacza, że namnażają się w komórkach żywych i nie namnażają się poza nimi. Mogą one przetrwać w komórce roślinnej do momentu jej zamarcia.

- **Rośliny żywicielskie:**

Badania wykazały, że wiroid jest patogenem wielu roślin z rodzaju *Citrus*. W wyniku sztucznej infekcji wykazano, że może porażać również ogórki, pomidory, bakłażany i niektóre rośliny ozdobne (Semanchik i Vidalakis 2005).

Cytrusy – *Citrus* spp.

Chmiel zwyczajny – *Humulus lupulus*

- **Symptomy:**

W okresie wegetacji, pierwsze objawy choroby na plantacji chmielu można zaobserwować na początku czerwca. Zainfekowane rośliny rozpoczynają wzrost wiosną i w czerwcu można zauważyć początkowe zahamowanie wzrostu. Z czasem objawy się nasilają, widać silne skracanie zarówno pędu głównego, jak i bocznych. Ponieważ ograniczony jest również wzrost części czepnych rośliny, zainfekowany chmiel opada ze wsparcia na którym rośnie. W przypadku niektórych odmian, zakażone rośliny zaczynają kwitnienie do 10 dni przed roślinami zdrowymi.

Liście na zainfekowanych roślinach pozostają mniejsze, czasami są zniekształcone, wykazują bąblowatość. W przypadku wybranych odmian można zaobserwować żółknięcie i podwijanie brzegów blaszki liściowej. Również szyszki są mniejsze i jaśniejsze, a ponadto zawierają mniej lupuliny. Choroba wpływa również na system korzeniowy, powodując suchą zgniliznę. Oznaki infekcji CBCVd mogą być podobne do tych powodowanych przez HSVd. Zdecydowanie różny jest w przypadku CBCVd okres inkubacji choroby, w porównaniu do HSVd. O ile w przypadku HSVd pierwsze objawy występują po 3-5 latach od zakażenia (Eastwell i Sano 2009; Sano 2003a,b,c), to w przypadku CBCVd są widoczne już w pierwszym roku (Jakše i wsp. 2014). Podobnie rozwój choroby jest szybszy w przypadku CBCVd, a zainfekowane rośliny całkowicie zamierają w ciągu 3-5 lat (Eastwell i Sano 2009; Radisek i wsp. 2012; Sano 2003a,b,c).

- **Wykrywanie i identyfikacja:**

Wykrywanie wiroidów opiera się o kilka technik diagnostycznych, począwszy od testów biologicznych, poprzez hybrydyzację molekularną i testy molekularne (RT-PCR), aż do hybrydyzacji połączonej z RT-PCR. Spośród najnowszych technik możliwe jest również zastosowanie nowatorskiej metody LAMP (loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) oraz testów ilościowych typu RT-qPCR. W przypadku wiroidów, ze względu na brak białka płaszczka, nie ma możliwości zastosowania testów serologicznych, do masowego wykrywania patogena w roślinie. W ciągu ostatniej dekady opracowano rutynowe testy diagnostyczne (RT-PCR) z zastosowaniem odpowiednich par starterów. Do najczęściej stosowanych należą te zaprojektowane przez Bernard i Duran-Vila (2006).

Ważną częścią w diagnostyce wiroidów jest właściwa izolacja kwasów nukleinowych z tkanek roślinnych. Wskazane jest stosowanie właściwych zestawów do izolacji, o wysokiej wydajności całkowitego RNA.

**3. Czy agrofag jest wektorem?** **Tak**  **Nie**

**4. Czy do przeniknięcia i rozprzestrzenienia potrzebny jest wektor?** **Tak**  **Nie**

CBCVd nie ma wektorów, przenoszony jest wyłącznie na drodze mechanicznej z zainfekowanych roślin oraz z zakażonym materiałem roślinnym.

### **5. Status regulacji agrofaga**

CBCVd znajduje się na liście alertowej EPPO od 2015 roku. Niektóre kraje mają regulacje wewnętrzne:

CBCVd is regulated within the Slovenian legislation:

- Decision on emergency measures against the introduction and spread of viroid hop stunt diseases (UL RS, 21/2015, 17.03.2015).
- Rules on the marketing of hop propagating material and of hop plants (UL RS, 45/13, 24/15).

### **6. Zasięg**

CBCVd należy do grupy wiroidów, które w warunkach naturalnych porażają drzewa i owoce cytrusowe. Jest to grupa mało dotychczas poznana i rozpowszechniona, występuje tylko w krajach, w których uprawiane są cytrusy (Duran-Vila i Semanchik 2003; Semanchik i Vidalakis 2005). Prowadzone badania wykazały, że CBCVd na cytrusach występuje zwykle w infekcji mieszanej z innymi wiroidami i niezwykle rzadko występuje sam.

Występowanie CBCVd w uprawach cytrusów w wybranych krajach:

- Południowa Afryka 1.1 % (Cook i wsp. 2012),
- Grecja 14 % (Wang i wsp. 2013),
- Włochy 12.5 % (Malfitano i wsp. 2005),
- Tunezja 2.3 % (Najar i Duran-Vila 2004),
- Chiny 7.1 % (Cao i wsp. 2010),

Obecność CBCVd na chmielu została potwierdzona jedynie na Słowenii w 2014 roku, na 13 plantacjach (łącznie 64.5 ha) (Jakše i wsp. 2014).

<b>Kontynent</b>	<b>Zasięg (lista krajów lub ogólne określenie np. występuje w Zachodniej Afryce)</b>	<b>Komentarz do statusu agrofaga w krajach, w których występuje (np. szeroko rozpowszechniony, rodzimy, introdukowany...)</b>	<b>Źródła</b>
Afryka	Południowa Afryka	obecny na cytrusach	Cook i wsp. 2012
	Tunezja	obecny na cytrusach	Najar i Duran-Vila 2004
	Sudan	obecny na cytrusach	Mohamed i wsp. 2009
Ameryka Pn.	USA: Kalifornia	obecny na cytrusach	Duran-Vila i wsp. 1988
	USA: Teksas	obecny na cytrusach	Kunta i wsp. 2007
Azja	Izrael	obecny na cytrusach	Puchta i wsp. 1991
	Chiny	obecny na cytrusach	Cao i wsp. 2010
	Japonia	obecny na cytrusach	Ito i wsp. 2002
	Turecja	obecny na cytrusach	Önelge i wsp. 2000
	Iran	obecny na cytrusach	Hashemian i wsp. 2013
Europa	Włochy	obecny na cytrusach	Malfitano i wsp. 2005
	Grecja	obecny na cytrusach	Wang wsp. 2013
	Słowenia	obecny na chmielu – 13 plantacji	Jakše i wsp. 2014

## 7. Rośliny żywicielskie/ siedliska\* i ich zasięg na obszarze PRA

Nazwa naukowa żywiciela (nazwa zwyczajowa) /siedlisko*	Występowanie na obszarze PRA (Tak/Nie)	Komentarz (np. całkowity obszar, główne/poboczne uprawy na obszarze PRA, główne/poboczne siedliska*)	Źródła
<i>Citrus</i> (Cytrusy)	Tak	Owoce sprowadzane do celów spożywczych, rośliny uprawiane jako ozdobne w warunkach pokojowych i oranżeriach	Duran-Vila N i wsp. 1988
<i>Humulus lupulus</i> (Chmiel)	Tak	Roślina uprawiana i dziko rosnąca	Jakše i wsp. 2014
<i>Cucumis sativus</i> (Ogórek siewny) <i>Solanum lycopersicum</i> (Pomidor zwyczajny) <i>Solanum melongena</i> (psianka podłużna, Bakłazan) <i>Chrysanthemum morifolium</i> (Złocień wielkokwiatowy)	Tak	W wyniku sztucznej inokulacji wykazano, że CBCVd może porażać również inne rośliny, takie jak: pomidory, bakłazany, złocień i ogórki, przy czym infekcja na tych roślinach pozostaje bezobjawowa	Duran-Vila i Semanchik 2003 Semanchik i Vidalakis 2005

\*Określić siedlisko dla roślin inwazyjnych, żywicielskich oraz innych agrofagów.

## 8. Droga przenikania

CBCVd może być przenoszony na duże odległości z zainfekowanym materiałem rozmnożeniowym, z resztkami zainfekowanych roślin, a także z niezdezynfekowanymi maszynami i narzędziami. CBCVd należy do wiroidów, których zakres występowania ogranicza się do cytrusów. Jedynym potwierdzonym wyjątkiem jest chmiel. Wprowadzenie wiroida do Polski jest zatem możliwe na owocach cytrusowych, z sadzonkami chmielu lub w ograniczonym zakresie na roślinach ozdobnych. Jednak właściwa utylizacja odpadów powinna ograniczyć rozprzestrzenianie wiroida z resztek owoców cytrusowych na plantacje chmielu.

Ponieważ po raz pierwszy CBCVd wystąpił na chmielu na Słowenii, przeprowadzone zostały badania owoców cytrusowych sprzedawanych w centrach handlowych, przywożonych z Grecji, Cypru i Izraela, na obecność wiroida. Wykazano, że 10% owoców było porażonych przez CBCVd (dane niepublikowane).

Biorąc pod uwagę powyższe, ryzyko rozprzestrzenienia się CBCVd z innych obszarów i roślin żywicielskich wydaje się niskie, pod warunkiem wdrożenia odpowiednich warunków uprawy materiału

rozmnożeniowego oraz właściwego przeprowadzania zabiegów agrotechnicznych. W przypadku nieprzebrzegania zasad profilaktyki, ryzyko może się znacznie zwiększyć. Przepuszczalnie, w ten sposób doszło do przeniesienia CBCVd z odpadów owoców cytrusowych na rośliny chmielu. Zostało to potwierdzone przez fakt, że w pobliżu ognisk choroby znajdowało się nielegalne wysypisko odpadów z gospodarstw domowych (dane niepublikowane). Jednak możliwość przenoszenia się wiroidów z owoców cytrusowych na inne rośliny uprawne wymaga dalszego potwierdzenia.

<b>Możliwe drogi</b> <i>(w kolejności istotności)</i>	<b>Krótkie wyjaśnienie dlaczego uważane za drogę przenikania</b>	Droga zakazana na obszarze PRA?  Tak/Nie	Agrofag dotychczas przechwycony tą drogą? Tak/Nie
Rośliny mateczne chmielu przeznaczone na sadzonki	Systemiczna infekcja roślin bądź ich części	Nie	Nie
Materiał rozmnożeniowy innych roślin żywicielskich	Systemiczna infekcja roślin bądź ich części	Nie	Nie
Owoce cytrusowe	Systemiczna infekcja roślin bądź ich części	Nie	Nie
Części roślin (pozostałości np. chmielu) usuwane z plantacji	Systemiczna infekcja roślin bądź ich części	Nie	Nie
Maszyny i narzędzia używane do zabiegów agrotechnicznych i pielęgnacji upraw	Systemiczna infekcja roślin bądź ich części	Nie	Nie

<i>Ocena prawdopodobieństwa przeniknięcia</i>	<i>Niska</i> <input type="checkbox"/>	<i>Średnia</i> <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Wysoka</i> <input type="checkbox"/>
<i>Ocena niepewności</i>	<i>Niska</i> <input type="checkbox"/>	<i>Średnia</i> <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Wysoka</i> <input type="checkbox"/>

### 9. Prawdopodobieństwo zasiedlenia w warunkach zewnętrznych na obszarze PRA

Podobnie jak większość wiroidów, również CBCVd może przez dłuższy czas przetrwać w zainfekowanych roślinach i resztkach poźniwnych. Może również być rozprzestrzeniany na drodze zakażeń mechanicznych i przy rozmnażaniu wegetatywnym roślin. Brak jest danych na temat możliwości rozprzestrzenienia wiroida wraz z nasionami. W przypadku infekcji utajonych i braku kontroli importowanego do kraju materiału, może dojść do wprowadzenia patogena na teren PRA, gdzie uprawianych jest kilka gatunków roślin mogących być jego gospodarzem. Przy braku inspekcji i właściwej kontroli, patogen może zostać w łatwy i szybki sposób rozprzestrzeniony w obrębie całej plantacji, a później na inne plantacje (przy braku dezynfekcji narzędzi i maszyn). Takim przykładem jest HSVd na winorośli czy HLVd na chmielu. W przypadku CBCVd, który powoduje na chmielu wyraźne objawy chorobowe widoczne już w pierwszym roku po założeniu plantacji, zapobieganie rozprzestrzenianiu się patogena jest łatwiejsze. Należy też wziąć pod uwagę zjadliwość patogena, która w przypadku CBCVd jest wysoka.

### Klimat

Warunki klimatyczne w Polsce, w okresie wegetacyjnym sprzyjają występowaniu i rozprzestrzenianiu się wiroidów, zarówno w warunkach polowych, jak i pod osłonami. Podobnie jak wirusy namnażają się w temperaturach 18 do 25°C, przy czym mają zdolność przetrwania nawet w -80°C.

<i>Ocena prawdopodobieństwa zasiedlenia w warunkach zewnętrznych</i>	Niska <input type="checkbox"/>	Średnia <input type="checkbox"/>	Wysoka <input checked="" type="checkbox"/>
<i>Ocena niepewności</i>	Niska <input checked="" type="checkbox"/>	Średnia <input type="checkbox"/>	Wysoka <input type="checkbox"/>

#### 10. Prawdopodobieństwo zasiedlenia w warunkach chronionych na obszarze PRA

Ryzyko przedostania się i zasiedlenia w warunkach chronionych jest niskie, biorąc pod uwagę zakres roślin gospodarzy CBCVd. Wyjątek może stanowić strefa, w której produkowany jest materiał rozmnożeniowy, w przypadku braku odpowiedniej kontroli fitosanitarnej rośliny matecznej użytej do produkcji sadzonek. W celu uniknięcia tego typu zagrożeń konieczne jest stosowanie certyfikowanego materiału rozmnożeniowego, a także kontrola stanu zdrowotności roślin rozmnażanych w celach propagacyjnych w szklarniach.

<i>Ocena prawdopodobieństwa zasiedlenia w warunkach chronionych</i>	Niska <input checked="" type="checkbox"/>	Średnia <input type="checkbox"/>	Wysoka <input type="checkbox"/>
<i>Ocena niepewności</i>	Niska <input checked="" type="checkbox"/>	Średnia <input type="checkbox"/>	Wysoka <input type="checkbox"/>

#### 11. Rozprzestrzenienie na obszarze PRA

- *Naturalne rozprzestrzenienie*

Wiroid nie posiada wektorów, przenosi się mechanicznie. Nie ma danych dotyczących przenoszenia wiroida z pyłkiem i nasionami. Do tej pory nie wykazano, żeby porażał chwasty. Wiroid przenosi się z owocami cytrusowymi, i w przypadku niewłaściwego, nielegalnego kompostowania może zostać uwolniony do środowiska. W przypadku utylizacji odpadów w sposób uregulowany prawnie nie ma ryzyka przeniesienia CBCVd z resztek owoców na plantacje chmielu.

Stwierdzenie CBCVd na chmielu może sugerować występowanie wiroida również na innych roślinach uprawnych, w tym na ziemniakach, winorośli czy roślinach owocowych, które są uprawiane w pobliżu plantacji chmielu, na której występuje patogen. Potwierdzenie bądź zaprzeczenie tej tezy wymaga dodatkowych analiz diagnostycznych z wykorzystaniem czułych technik biologii molekularnej.

- *Z udziałem człowieka*

Na dalekie dystanse wiroid może rozprzestrzeniać się przede wszystkim wraz z zainfekowanym materiałem rozmnożeniowym (możliwe rozprzestrzenienie pomiędzy kontynentami), a także, na krótsze dystanse z zainfekowanymi odpadami roślinnymi.

W początkowej fazie rozwoju choroby objawy nie są widoczne, co może przyczynić się do rozprzestrzenienia wiroida wewnątrz plantacji. Na drodze mechanicznej, wiroid może zostać przeniesiony wraz z sokiem w trakcie zabiegów pielęgnacyjnych (zanieczyszczone maszyny i narzędzia), zabiegów ochrony plantacji czy w trakcie zbiorów, na kolejne rośliny. Do tego typu zakażeń dochodzi najczęściej wiosną, kiedy przeprowadzane są zabiegi agrotechniczne przygotowujące daną plantację do sezonu wegetacyjnego oraz w trakcie zbiorów. W tych okresach dochodzi do najsilniejszych uszkodzeń roślin, które sprzyjają rozprzestrzenianiu się patogenów przenoszonych mechanicznie. W ciągu jednego roku choroba może objąć do 20% roślin na danej plantacji (Jakše i wsp. 2014).

CBCVd powoduje również suchą zgniliznę systemu korzeniowego. W trakcie zabiegów pielęgnacyjnych przeprowadzanych jesienią, takie zdrewniałe części odrywają się od rośliny i wraz z ziemią są przenoszone na maszynach do innych, nie zainfekowanych obszarów plantacji.



W przypadku likwidacji porażonej plantacji chmielu, wiroid może pozostać w resztkach na polu, dlatego też w celu uniknięcia rozprzestrzeniania się patogena, konieczne jest zaoranie bądź wykarczowanie resztek roślin. Wskazana jest wówczas co najmniej trzyletnia przerwa z uprawą roślin, które nie są gospodarzem CBCVd.

<i>Ocena wielkości rozprzestrzenienia</i>	<i>Niska</i> <input type="checkbox"/>	<i>Średnia</i> <input type="checkbox"/>	<i>Wysoka</i> <input checked="" type="checkbox"/>
<i>Ocena niepewności</i>	<i>Niska</i> <input type="checkbox"/>	<i>Średnia</i> <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Wysoka</i> <input type="checkbox"/>

## 12. Wpływ w obecnym obszarze zasięgu

W krajach, w których uprawiane są drzewa i owoce cytrusowe, CBCVd nie jest uznawany za groźnego patogena tych roślin występuje natomiast często w infekcji mieszanej z innymi wiroidami, które uznawane są za szkodliwe dla cytrusów. Infekcja tylko CBCVd nie wpływa niekorzystnie na wzrost i wydajność roślin (Vernière i wsp. 2004, 2006). Chmiel jest zupełnie nowym gospodarzem dla CBCVd i w przeciwieństwie do drzew cytrusowych, ulega silnym porażeniom objawiającym się zahamowaniem wzrostu, co przyczynia się do znacznych strat ekonomicznych. Dotychczas wykarczowano 25.5 ha plantacji chmielu, na których stwierdzono obecność wiroida, a na pozostałych plantacjach usuwano pojedyncze rośliny, jako środek zapobiegawczy w jego rozprzestrzenianiu się na danej uprawie. Począwszy od roku 2011, kiedy wprowadzono środki nadzwyczajne przeciwko rozprzestrzenianiu się HSVd również występowanie CBCVd zostało w znacznym stopniu ograniczone. Pomimo wprowadzonych środków zapobiegawczych, CBCVd pojawia się sporadycznie, głównie na tych plantacjach, gdzie wcześniej nie był stwierdzany i na nowych plantacjach założonych w miejscach, gdzie wiroid wcześniej występował.

Środki finansowe przyznane właścicielom plantacji chmielu jako odszkodowanie za likwidację plantacji wyniosły od 2011 do 2015 roku 213 300 Euro. Do tego dochodzą koszty likwidacji uprawy, dezynfekcji maszyn i narzędzi, a także transport usuniętych roślin w miejsce wyznaczone do likwidacji.

<i>Ocena wielkości wpływu na obecnym obszarze zasięgu</i>	<i>Niska</i> <input type="checkbox"/>	<i>Średnia</i> <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Wysoka</i> <input type="checkbox"/>
<i>Ocena niepewności</i>	<i>Niska</i> <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Średnia</i> <input type="checkbox"/>	<i>Wysoka</i> <input type="checkbox"/>

*Ocena powinna się opierać na najwyższym wpływie.*

## 13. Potencjalny wpływ na obszarze PRA

W Polsce nie prowadzono dotychczas regularnych badań nad występowaniem CBCVd. Jedynie w roku 2015 przetestowano około 70 próbek chmielu pod kątem występowania wiroidów. Nie stwierdzono obecności patogena (badania prowadzone w Zakładzie Wirusologii i Bakteriologii IOR-PIB). Nie prowadzono również badań owoców cytrusowych importowanych do Polski.

Skutki infekcji wiroidem na uprawach chmielu na Słoweni, były widoczne już w pierwszym roku po zakażeniu. Rośliny były silnie zahamowane we wzroście, skarłowaciałe. Takich samych, wysokich strat w uprawie chmielu należy się spodziewać w przypadku wystąpienia CBCVd w Polsce. W przypadku nasilenia występowania patogena, jego wpływ na uprawy chmielu może być ogromny. Wówczas straty ekonomiczne mogą być porównywalne z tymi w Japonii i USA, gdzie straty na porażonych plantacjach były bardzo duże, a usunięcie choroby wymagało długoterminowego zwalczania

W przypadku wykrycia roślin chorych należy je natychmiast usunąć z plantacji i zniszczyć wraz z roślinami rosnącymi w najbliższym sąsiedztwie. W skrajnych przypadkach może być konieczne zlikwidowanie całej uprawy. Wystąpienie pojedynczych ognisk choroby może również stanowić zagrożenie dla upraw rosnących w pobliżu, ze względu na łatwość rozprzestrzeniania się wiroida.

Ryzyko rozprzestrzenienia się i oddziaływania CBCVd na inne rośliny nie zostało dotychczas zbadane, ze względu na fakt, że nie zostały rozpoznane wszystkie rośliny, na których wiroid może wystąpić w sposób naturalny.

Dlatego też bardzo istotne jest zapobieganie wprowadzeniu patogena, uwzględniające zdrowy materiał rozmnożeniowy, niszczenie resztek porażonych roślin, stosowanie środków higienicznych, a przede wszystkim zaangażowanie wszystkich właściwych służb fitosanitarnych, mające na celu niedopuszczenie wiroida na teren Polski i EU.

Czy wpływ będzie równie duży jak na obecnym obszarze występowania? Tak

Jeżeli nie,

<i>Ocena wielkości wpływu na potencjalnym obszarze zasiedlenia</i>	<i>Niska</i> <input type="checkbox"/>	<i>Średnia</i> <input type="checkbox"/>	<i>Wysoka</i> <input type="checkbox"/>
<i>Ocena niepewności</i>	<i>Niska</i> <input type="checkbox"/>	<i>Średnia</i> <input type="checkbox"/>	<i>Wysoka</i> <input type="checkbox"/>

#### 14. Identyfikacja zagrożonego obszaru

Przede wszystkim, pojawienie się CBCVd może zagrozić całej produkcji chmielu w Polsce (woj. wielkopolskie, lubuskie, dolnośląskie), która obejmuje 1423,6 ha powierzchni (dane Inspekcji Jakości Artykułów Rolno-Spożywczych na dzień 30.06.2015). W ostatnich latach powierzchnia uprawy chmielu spada, niemniej jednak Polska pozostaje piątym producentem chmielu w Unii Europejskiej. Ryzyko rozprzestrzeniania się wiroida w sposób naturalny jest bardzo niskie na tym obszarze i jest możliwe głównie w trakcie usuwania resztek roślin w pobliżu innych plantacji chmielu. Ryzyko rozprzestrzenienia się wiroida do naturalnej roślinności w Polsce wydaje się stosunkowo niskie. Kolejnym zagrożeniem mogłyby być regularne powodzie przenoszące materiał organiczny z jednego obszaru uprawy na sąsiedni.

Nie ma danych dotyczących przenoszenia CBCVd z nasionami czy pyłkiem, w związku z czym nie ma możliwości przeniesienia choroby z zagrożonego rejonu na inne uprawy w kraju. Ryzyko zagrożenia dla polskich upraw chmielu zwiększa się, jeśli wziąć pod uwagę fakt, że wiroid wystąpił aż na 13 plantacjach na Słowenii. Może to oznaczać jego szybkie rozprzestrzenienie się na uprawy chmielu w innych krajach Unii Europejskiej.

Można podejrzewać, że CBCVd ma więcej roślin gospodarzy, które w sprzyjających warunkach może zasiedlić. Mogą to być między innymi rośliny porażane przez HSVd (winorośle, drzewa pestkowe i niektóre drzewa owocowe).

#### 15. Ogólna ocena ryzyka

Wystąpienia CBCVd na chmielu na Słowenii stanowi dowód na to, że wiroid może zostać rozprzestrzeniony pomiędzy różnymi gospodarzami – z cytrusów na chmiel. Ponadto, na nowym gospodarzu CBCVd wywołał dużo groźniejsze objawy chorobowe niż na cytrusach, powodując duże straty ekonomiczne na zainfekowanych plantacjach.

Wprowadzenie CBCVd do Polski odbywa się poprzez import i sprzedaż owoców cytrusowych. Zakres importu jest wysoki, ale ze względu na fakt, że większość odpadów trafia na regulowane prawnie, miejskie wysypiska śmieci, wiroid nie ma możliwości rozprzestrzenienia się na inne rośliny. Jednak w przypadku niewłaściwego przetworzenia odpadów z cytrusów istnieje duże ryzyko przeniesienia wiroida na chmiel.

Przywóz roślin cytrusowych przeznaczonych do sadzenia w Polsce jest stosunkowo niewielki i przeznaczony wyłącznie do użytku niekomercyjnego lub jako roślina ozdobna.

W wyniku „przedostania się” CBCVd na chmiel, wiroid może się szybko rozprzestrzenić na plantacji, dzięki intensywnej i specyficznej dla tej rośliny uprawie; głównie ze względu na rozmnażanie wegetatywne i produkcję dużej ilości resztek roślinnych pozostających na polu. Znaczenie ma też gęstość roślin na plantacji, które dodatkowo są ze sobą powiązane, co również zwiększa ryzyko rozprzestrzenienia się wiroida.

Niekorzystny wpływ CBCVd na wzrost i rozwój chmielu jest bardzo duży, a pierwsze objawy zahamowania wzrostu jest widoczny już w pierwszym roku po infekcji. Rośliny w całości zamierają w ciągu 3-5 lat. Dlatego należy założyć, że w przypadku wprowadzenia CBCVd do Polski, straty w rejonach uprawy chmielu mogą być bardzo wysokie.

### **Etap 3. Zarządzanie Ryzykiem Zagrożenia Agrofagiem**

#### **16. Środki fitosanitarne**

Ciągle nierozwiązany pozostaje problem ograniczania występowania wiroidów ze względu na brak środków chemicznych do bezpośredniego ich zwalczania. Ochrona roślin przed wiroidami polega przede wszystkim na systematycznej kontroli materiału rozmnożeniowego sprowadzanego do kraju i rozprzestrzeganego w Polsce, na likwidowaniu zainfekowanych roślin oraz stosowaniu środków higieny. Konieczne wydaje się stosowanie certyfikowanego materiału rozmnożeniowego wolnego od CBCVd, który gwarantuje odpowiedni stan zdrowia roślin przeznaczonych do sadzenia.

W obszarach zakażonych i zagrożonych zakażeniem, ważnym środkiem ochrony jest systematycznie badanie, kontrolowanie plantacji, które pozwoli na wczesne wykrycie choroby.

Rozprzestrzeniania patogena można częściowo kontrolować poprzez unikanie sąsiedztwa roślin tego samego gatunku, bądź będących gospodarzami wiroida. Konieczna jest dezynfekcja narzędzi i maszyn stosowanych w trakcie zabiegów pielęgnacyjnych na plantacjach.

#### *Opcje w miejscu produkcji*

Ważnym elementem wczesnego wykrycia CBCVd jest kontrola plantacji w celu zapobiegania rozprzestrzeniania się wiroida. W przypadku wykrycia agrofaga w miejscu produkcji (plantacje chmielu) w wyniku inspekcji lub testowania konieczne jest usunięcie i całkowite zniszczenie (spalenie, zakopanie) roślin chorych oraz rosnących w najbliższym sąsiedztwie. Ponieważ często CBCVd rozprzestrzany jest pomiędzy plantacjami z zabrudzonymi narzędziami i maszynami, konieczna jest ich dezynfekcja.

W przypadku wystąpienia pojedynczych ognisk choroby zaleca się usunięcie roślin w tym samym rzędzie w odległości co najmniej dwóch metrów. Porażenie powyżej 20% powinno skutkować likwidacją zagrożonej plantacji w całości.

Stwierdzenie obecności CBCVd na plantacjach matecznych – zaleca się likwidację całej partii sadzonek wraz z rośliną mateczną, z której materiał był pobrany.

Istotnym czynnikiem w rozprzestrzaniu patogena są resztki roślin chmielu zainfekowane wiroidem. Dlatego zabronione powinno być usuwanie takich odpadów i pozostawianie ich w miejscach, gdzie CBCVd (bądź inne wiroidy) nie występował.

Na obszarach, na których potwierdzono obecność patogena zaleca się co najmniej trzyletnią przerwę w uprawie chmielu. Wskazane jest zastosowanie płodozmianu, poprzez uprawę roślin niebędących gospodarzem CBCVd (zboża, kukurydza, okopowe), co pozwoli na usunięcie z gleby resztek roślin chmielu i przygotowanie ziemi pod nową plantację chmielu.

#### *Opcje po żniwach, przed odprawą lub w czasie transportu*

Wykrycie CBCVd w materiale importowanym/eksportowanym w wyniku inspekcji lub testowania – należy poinformować producenta, zniszczyć przesyłki oraz kontrolować plantację, z której nastąpiła wysyłka.

Ważnym czynnikiem w rozprzestrzaniu się infekcji są resztki zainfekowanych roślin, pozostające na plantacji. Dlatego też zabronione powinno być przemieszczanie resztek roślin z zainfekowanych plantacji, na plantacje na których CBCVd dotychczas nie wystąpił.

*Opcje, które mogą być zastosowane po wejściu przesyłek*

Wykrycie w trakcie kwarantanny po wejściu – w przypadku zakażonego materiału rozmnożeniowego konieczne jest całkowite jego zniszczenie.

W Unii Europejskiej wiroid został wykryty na 13 plantacjach na Słowenii. Wielkość poszczególnych ognisk z niewielkimi wyjątkami jest nieduża. Jednak w przypadku nasilenia występowania patogena, jego wpływ na uprawy chmielu może być ogromny. Starty ekonomiczne mogą być bardzo duże, a usunięcie choroby może wymagać długoterminowego zwalczania.

### **17. Niepewność**

Głównym źródłem niepewności jest brak badań na plantacjach chmielu, a w szczególności w matecznikach, gdzie produkowane są nowe sadzonki służące do zakładania nowych plantacji, pod kątem występowania wiroidów i wirusów.

Brak jest danych dotyczących występowania CBCVd na innych roślinach uprawianych w Polsce oraz na cytrusach sprowadzanych do kraju, a także na temat możliwości przeniesienia CBCVd z nielegalnych wysypisk odpadów organicznych usytuowanych w pobliżu plantacji chmielu, na rośliny chmielu.

Niepewność powodowana jest również przez brak informacji na temat przenikania CBCVd pomiędzy różnymi gatunkami roślin, w tym roślin rolniczych, drzew owocowych czy winorośli rosnących w pobliżu obszarów zarażonych wiroidem.

Diagnostyczne testy molekularne nie potwierdziły obecności CBCVd na chwastach rosnących w pobliżu zainfekowanych roślin chmielu (dane niepublikowane).

### **18. Uwagi**

W przypadku dostania się CBCVd na teren Polski z jednej strony i braku realizacji działań zapobiegających rozprzestrzenianiu się wiroida, może dojść do jego szybkiego rozprzestrzenienia się w obrębie polskich plantacji chmielu. Można wówczas spodziewać się dużych strat w plonach.

Spośród krajów Unii Europejskiej zajmujących się uprawą chmielu, obecnie CBCVd występuje, i to tylko w ograniczonym zakresie, na Słowenii. Ze względu na wysoką agresywność wiroida, niski poziom rozprzestrzeniania się oraz potencjalne straty ekonomiczne, CBCVd powinien być rekomendowany do uzyskania statusu organizmu kwarantannowego, zarówno na terenie Polski, jak i Unii Europejskiej.

## 19. Zdroja

- Bernard L., Duran-Vila N. 2006. A novel RT-PCR approach for detection and characterization of citrus viroids. *Molecular and Cellular Probes* 20: 105-113.
- Cao M.J., Liu Y.Q., Wang X.F., Yang F.Y., Zhou C.Y. 2010. First report of *Citrus bark cracking viroid* and *Citrus viroid V* infecting Citrus in China. *Plant Disease* 94(7): p 922.
- Cook G., van Vuuren S.P., Breytenbach J.H.J., Manicom B.Q. 2012. *Citrus Viroid IV* detected in *Citrus sinensis* and *C. reticulata* in South Africa. *Plant Disease* 96(5): p 772.
- Cook G., van Vuuren S.P., Breytenbach J.H.J., Manicom B.Q. 2012. *Citrus Viroid IV* detected in *Citrus sinensis* and *C. reticulata* in South Africa. *Plant Dis.* 96(5): 772.
- Duran-Vila N., Semancik J.S. 2003. Citrus viroids. In: Hadidi A, Flores R, Randles JW, Semancik JS, eds. *Viroids*. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia, 178-194.
- Duran-Vila N., Roistacher C.N., Rivera-Bustamante R., Semancik J.S. 1988. A definition of citrus viroid groups and their relationship to the exocortis disease. *Journal General Virology* 69:3069–3080.
- Eastwell K.C., Sano T. 2009. Hop Stunt. In: MahaffeeWF, Pethybridge SJ, Gent DH, eds. *Compendium of Hop Diseases and Pests*. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN, 48-50.
- Hashemian S.M.B., Taheri H., Alian Y.M., Bové J.M., Duran-Vila N. 2013. Complex mixtures of viroids identified in the two main citrus growing areas of Iran. *Journal of Plant Pathology* 95(3): 647-654.
- Ito T., Ieki H., Ozaki K., Iwanami T., Nakahara K., Hataya T., Ito T., Isaka M., Kano T. 2002. Multiple citrus viroids in citrus from Japan and their ability to produce exocortis-like symptoms in citron. *Phytopathology* 92: 542-547.
- Jakše J., Radisek S., Pokorn T., Moatoušek J., Javornik B. 2014. Deep-sequencing revealed a CBCVd viroid as a new and highly aggressive pathogen on hop. *Plant Pathol.* doi: 10.1111/ppa.12325.
- Kunta M., Graca J.V., Skaria M. 2007. Molecular Detection and Prevalence of Citrus Viroids in Texas. *Hortscience* 42(3): 600-604.
- Malfitano M., Barone M., Alioto D., Duran-Vila N. 2005. A survey of citrus viroids in Campania (Southern Italy). *Plant Disease* 89(4): p 434.
- Mohamed M.E., Bani Hashemian S.M., Dafalla G., Bové J.M., Duran-Vila N. 2009. Occurrence and identification of citrus viroids from Sudan. *J Plant Pathol.* 91(1): 185-190.
- Najar A., Duran-Vila N. 2004. Viroid prevalence in Tunisian citrus. *Plant Disease* 88: p 1286.
- Önelge N., Kersting U., Guang Y., Bar-Joseph M., Bozan O. 2000. Nucleotide sequence of citrus viroids CVd IIIa and CVd IV obtained from dwarfed Meyer lemon trees grafted on sour orange. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 107: 387-391.
- Puchta H., Ramm K., Luckinger R., Hadas R., Barjoseph M., Sanger H.L. 1991. Primary and secondary structure of citrus viroid-iv (CVd-IV), a new chimeric viroid present in dwarfed grapefruit in Israel. *Nucleic Acids Research* 19: 6640.
- Radisek S., Majer A., Jakse J., Javornik B., Matoušek J. 2012. First report of Hop stunt viroid infecting hop in Slovenia. *Plant Disease* 96(4): 592.
- Sano T. 2003a. Hop stunt viroid in cucumber. In: Hadidi A., Flores R., Randles J.W., Semancik J.S., eds. *Viroids*. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia, 134-136.
- Sano T. 2003b. Hop stunt viroid in plum and peach. In: *Viroids*. Hadidi A., Flores R., Randles J.W., Semancik J.S., eds. *Viroids*. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia, 165-167.

- Sano T. 2003c. Hop stunt viroid. In: Hadidi A., Flores R., Randles J.W., Semancik J.S., eds. *Viroids*. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia, 207-212.
- Sasaki M., Shikata E. 1977a. Studies on the host range of hop stunt disease in Japan. *Proceedings of the Japan Academy. Series B*, 53:103-108.
- Sasaki M., Shikata E. 1977b. On some properties of hop stunt disease agent, a viroid. *Proceedings of the Japan Academy. Series B*, 53:109-112.
- Semancik J.S., Vidalakis G. 2005. The question of Citrus viroid IV as a Cocadviroid. *Archives of Virology* 150: 1059–67.
- Vernière C., Perrier X., Dubois C., Dubois A., Botella L., Chabrier C., Bové J.M., Duran Vila N. 2004. Citrus viroids: symptom expression and effect on vegetative growth and yield of clementine trees grafted on trifoliolate orange. *Plant Disease* 88: 1189–97.
- Vernière C., Perrier X., Dubois C., Dubois A., Botella L., Chabrier C., Bové J.M., Duran-Vila N. 2006. Interactions between citrus viroids affect symptom expression and field performance of clementine trees grafted on trifoliolate orange. *Phytopathology* 96: 356–68.
- Wang J., Boubourakas I.N., Voloudakis A.E., Agorastou T., Magrmpis G., Rucker T.L., Kyriakopoulou P.E., Vidalakis G. 2013. Identification and characterization of known and novel viroid variants in the Greek national citrus germplasm collection: threats to the industry. *European Journal of Plant Pathology* 137: 17-27.

Załącznik 1. Odpowiednio informatywne zdjęcie



[https://www.eppo.int/QUARANTINE/Alert\\_List/viruses/CBCVD0.htm](https://www.eppo.int/QUARANTINE/Alert_List/viruses/CBCVD0.htm)



<https://gd.eppo.int/taxon/CBCVD0/photos>



<https://gd.eppo.int/taxon/CBCVD0/photos>