
OCENA PORAŻENIA BORÓWKI WYSOKIEJ PRZEZ WIRUSY NA TERENIE POLSKI POŁUDNIOWEJ

Assessment of virus infections of highbush blueberry plantings in the south of Poland

Barbara Nowak

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie
Al. 29 listopada 54, 31-425 Kraków
e-mail: bnowak@ogr.ar.krakow.pl

ABSTRACT

In 2006 and 2008, a total of 108 blueberry plants were tested for the presence of blueberry scorch virus (BIScV), blueberry shock virus (BIShV), blueberry leaf mottle virus (BIMoV), peach rosette mosaic virus (PRMV), blueberry shoestring virus (BSSV), and tobacco ringspot virus (TRSV). The plants for the investigations were selected from commercial plantations, non-professional plantings, and the university's experimental collection according to the symptoms observed on the flowers and leaves during the growing season. The ELISA assays and biological tests performed on *Cucumis sativus* 'Monastyrski', *Phaseolus vulgaris* 'Mamut', *Nicotiana tabacum* 'Samsun', *Chenopodium quinoa*, *Chenopodium amaranticolor*, and *Nicotiana benthamiana* did not confirm the presence of the viruses in any of the tested plant.

Key words: blueberry, viruses

WSTĘP

Borówka wysoka (*Vaccinium corymbosum* L., syn. *V. covilleianum* But. et Pl.), pochodzi z obszarów Ameryki Północnej i jest jedną z najpóźniej wprowadzonych do uprawy roślin sadowniczych w Polsce. Obecnie zainteresowanie jej uprawą rośnie z roku na rok z uwagi na bardzo smaczne i atrakcyjne owoce o dużej wartości dietetycznej i odżywczej oraz odznaczające się wysoką zawartością związków przeciwutleniających. O atrakcyjności uprawy tej rośliny stanowią również

łatwość zbytu owoców, zwłaszcza na rynki zachodnie, oraz duża niezawodność plonowania. Jednym z poważniejszych zagrożeń w jej uprawie, opisywanych w literaturze amerykańskiej, są choroby powodowane przez wirusy: nitkowatość borówki wysokiej BSSV, pstrość liści borówki wysokiej BLMoV, czerwona pierścieniowa plamistość borówki wysokiej BRRV, oparzelina borówki wysokiej BScV, szok borówki wysokiej BShV, mozaikowata rozetkowatość brzoskwini PRMV, pierścieniowa plamistość pomidora TomRSV, pierścieniowa plamistość tytoniu TRSV.

Objawy wywoływane przez wirusy są zwykle zmienne i zależą często od odmiany i jej podatności na wirusa, warunków pogodowych i uprawowych, a także od szczepu wirusa. Najbardziej typowym symptomem świadczącym o porażeniu **wirusem nitkowatości** jest zwężenie blaszki liściowej, która ma często czerwone przebarwienia, zwykle w kształcie liścia dębu. Czerwone smugi można zaobserwować po nasłonecznionej stronie niezdrewniałych pędów oraz na koronie kwiatów. **Wirus pstrości liści borówki wysokiej** najczęściej powoduje zahamowanie wzrostu, u niektórych odmian zamieranie pędów ('Rubel') w części szczytowej lub wytwarzanie rozetek drobnych liści. U odmian wrażliwych może się pojawić pstrość liści borówki wysokiej. Objawy **czerwonej pierścieniowej plamistości borówki wysokiej** są najlepiej widoczne w okresie owocowania krzewów. Od czerwca na młodych liściach mogą się pojawiać czerwone plamki, pierścienie i wzory liniowe. Nieco później, na górnej stronie starszych liści pojawiają się czerwono-brązowe plamki o średnicy 2-6 mm, często z zielonym środkiem. Bardzo zmienne są objawy rozwijające się pod wpływem obecności **wirusa oparzeliny borówki wysokiej**. Wirus ten ma kilka szczepów, a odmiany borówki różnią się podatnością na infekcję. Najczęściej objawem choroby jest całkowita nekrotyzacja kwiatostanów, a na liściach nekrozy, chlorozy, czasem wzory liniowe. Zamieranie kwiatostanów wywołuje również wirus szoku borówki wysokiej; zaschnięte kwiaty opadają z krzewów, podobnie jak żółknięte liście. Na bezlistnych krzewach nowe liście zaczynają się pojawiać dopiero w lecie. Objawy szoku można obserwować przez 2-3 lata, potem choroba wchodzi w fazę utajoną. **Wirus mozaikowatej rozetkowatości brzoskwini** powoduje u porażonych borówek silną deformację liści. Zniekształcenie blaszki liściowej wraz z nekrotycznymi

plamami może być spowodowane obecnością **wirusa pierścieniowej plamistości tytoniu**, a z chlorotycznymi plamami – obecnością **wirusa pierścieniowej plamistości pomidora** (Paduch-Cichal i Nowak 2008; Pliszka 2008). Wszystkie z wymienionych wirusów mają negatywny wpływ na plon albo przez bezpośrednie ograniczenie kwitnienia i zawiązywania owoców, albo pośrednio przez ograniczenie fotosyntezy i wzrostu porażonych roślin.

W Europie obecność wirusów borówki została już stwierdzona (Ciuffo i in. 2005), chociaż badania w tym kierunku są nieliczne, natomiast w Polsce miały one dotychczas charakter lustracji krzewów i rejestracji objawów, które w nielicznych tylko przypadkach były poparte testami wirusologicznymi (Nowak i Witek 2006). Stan fitosanitarny plantacji borówki w Polsce w aspekcie wirusologicznym jest zatem nieznanym.

Celem badań było przetestowanie różnymi metodami podejrzanych o zainfekowanie wirusem krzewów borówki wytypowanych na podstawie objawów na wybranych plantacjach i w nasadzeniach amatorskich w południowej Polsce.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono w 2006 oraz 2008 roku na 5 plantacjach z okolic Krakowa, w eksperymentalnej kolekcji Uniwersytetu Rolniczego oraz na 58 krzewach w nasadzeniach amatorskich.

Wiek i pochodzenie krzewów w uprawach objętych obserwacjami były zróżnicowane. W przypadku kolekcji doświadczalnej UR były to 20-letnie krzewy odmian Darrow, Bluecrop, Croatan oraz Herman. Na jednej z plantacji testowano ośmioletnie krzewy borówki wysokiej odmian Haidi, Patriot, Bluecrop oraz Darrow, a także borówki średniej ‘Northland’ i ‘Northblue’. Na najstarszej z lustrowanych plantacji rosły krzewy około 30-letnie oraz sąsiadująca z tą plantacją kwatery krzewów 5-10-letnich różnych odmian. Oprócz tego obserwacje prowadzono na 6-8-letniej plantacji z około 20 odmianami oraz w dwuletnich nasadzeniach odmian Patriot, Chandler, Toro, Duke oraz Bluecrop. Część sadzonego materiału pochodziła z rozmnożenia przez właścicieli plantacji, a część stanowiła

materiał szkółkarski dostępny powszechnie w handlu, rozmnażany metodą tradycyjną lub w kulturach tkankowych.

W nasadzeniach amatorskich obserwowane krzewy były najczęściej nieokreślonej odmiany, w wieku 3, 11 i 17 lat.

W 2006 roku na plantacjach w kolekcji UR oraz z nasadzeń amatorskich krzewy kwalifikowano do testów na podstawie objawów obserwowanych w czasie lustracji w maju i w czerwcu, a materiałem pobieranym do testów były liście. Testy wykonano posługując się świeżym materiałem. Łącznie badaniami objęto 80 krzewów. W 2008 roku lustracje na plantacjach przeprowadzono w maju i czerwcu, a także podczas kwitnienia (kwiecień) i dojrzewania owoców (lipiec), a materiałem pobieranym do testów były zarówno kwiatostany, jak i liście. W testach wykorzystywano świeże liście lub mrożone kwiatostany. Łącznie przetestowano 28 roślin.

Obserwacje w czasie kwitnienia borówki miały na celu odnotowanie ewentualnych symptomów porażenia na kwiatach (objawy szoku, oparzeliny, nitkowatości). Okres wzrostu wegetatywnego jest odpowiedni do obserwowania objawów pstrości liści borówki wysokiej, nitkowatości borówki wysokiej, pierścieniowej plamistości tytoniu, mozaikowatej rozetkowatości brzoskwini, a pora owocowania objawów czerwonej pierścieniowej plamistości borówki wysokiej.

W roku 2006 rośliny wytypowane na podstawie objawów krzewy były testowane metodą serologiczną. Spośród testowanych roślin pięć (dwie z kolekcji UR i trzy z nasadzeń amatorskich) pomimo negatywnych wyników postanowiono ponownie przetestować w kolejnym sezonie.

W 2008 roku rośliny wytypowane na podstawie objawów były badane serologicznie oraz testami biologicznymi.

Rośliny zostały zbadane serologicznie na obecność wirusów borówki (TRSV, PRMV, BIMoV, BISHV, BISCv, BBSV) w teście ELISA (Clark i Adams 1977) z wykorzystaniem komercyjnych zestawów firmy AGDIA (USA). Do wykrywania wirusów TRSV, PRMV oraz BISCv zastosowano bezpośrednią wersję testu DAS ELISA z alkaliczną fosfatazą, do wykrywania BBSV – bezpośrednią wersję testu DAS ELISA z peroksydazą, a do wykrywania BIMoV i BISHV pośrednią wersję testu ELISA z alkaliczną fosfatazą. W 2006 roku testowane były świeże liście, a w 2008 roku mrożone kwiatostany i liście.

W 2008 roku wykonano również testy biologiczne, stosując następujące rośliny wskaźnikowe (Brunt i in. 1996):

- A. – ogórek *Cucumis sativus* ‘Monastyrski’,
 - fasola *Phaseolus vulgaris* ‘Mamut’,
 - tytoń *Nicotiana tabacum* ‘Samsun’ z wykorzystaniem mrożonych kwiatostanów jako źródła inokulum, oraz
- B. – *Chenopodium quinoa* (na tej roślinie wskaźnikowej wykonano również reizolację z jednej rośliny fasoli, na której we wcześniejszym teście zaobserwowano pojedyncze plamki),
 - *Chenopodium amaranticolor*,
 - tytoń *Nicotiana benthamiana* z wykorzystaniem liści jako źródła inokulum. Testy biologiczne wykonano w 3 powtórzeniach.

WYNIKI I DYSKUSJA

W czasie lustracji na każdej z plantacji zaobserwowano pojawienie się objawów wskazujących na obecność infekcji wirusowej. Były to symptomy zarówno na kwiatach i pędach widoczne w porze kwitnienia, jak i pojawiające się później w czasie intensywnego wzrostu wegetatywnego: ograniczenie kwitnienia, zasychanie pąków i krótkopędów, przebarwienia kwiatach na czerwono, deformacje blaszki liściowej (pofałdowanie, pomarszczenie, zdrobnienie liści, skędzierzawienie, „wierzbowatość”, „łyżeczkowate” blaszki liściowe), rozległe nekrozy liści lub drobne nekrotyczne plamki, pierścienie, plamy i chlorotyczne smugi na liściach oraz różowo-białe przebarwienia liści. Przedstawione objawy mogły wskazywać na obecność infekcji wirusowej omawianej w literaturze (Converse 1987; Diekman i in. 1994; Caruso i Ramsdell 1995).

Testy serologiczne nie wykazały obecności żadnego z szukanych wirusów zarówno w badanych kwiatostanach, jak i w liściach. W testach biologicznych jedynie na fasoli pojawiły się pojedyncze nekrotyczne, białoobrzeżone plamki. Liście te zostały zamrożone i użyte do reizolacji na *Chenopodium quinoa*. Na tej roślinie wskaźnikowej nie wystąpiły jednak żadne symptomy.

Zgodnie z opinią niektórych autorów (Lesney i in. 1978; Martin 2001) w przypadku borówki, z uwagi na wysoką zawartość fenoli i garbników,

lepszym materiałem do testów są kwiatostany. Zawierają one mniej związków inaktywujących wirusy, a więc prawdopodobieństwo wykrycia wirusa powinno być wyższe. Dlatego tam, gdzie było to możliwe (z uwagi na odległość i czas transportu), do testów wykorzystywano kwiatostany lub w niektórych przypadkach test wykonano dwukrotnie na liściach i kwiatostanach.

Nie potwierdzono jednak – z jednym wyjątkiem – infekcji wirusowej, jako przyczyny obserwowanych zmian. Może świadczyć to o braku wirusów na plantacjach objętych badaniami. Należy jednak pamiętać o tym, że zastosowane testy oraz kryteria pobierania materiału do badań są dostosowane do klimatu panującego w Stanach Zjednoczonych i mogą być niedoskonałe w naszych warunkach, co może utrudniać wykrycie wirusów, chociaż te same procedury pozwoliły na wykrycie wirusów we Włoszech (Ciuffo i in. 2005).

Tylko w odniesieniu do borówki odmiany Darrow z kolekcji doświadczalnej UR podczas testu biologicznego pojawiły się drobne nekrotyczne plamki na jednym liściu fasoli. W 2006 roku w czasie wstępnych obserwacji obserwowano zniekształcone liście (pofałdowane, pomarszczone, o nieco mniejszych rozmiarach), które mogły wskazywać na obecność TRSV. Fasola jest rośliną wskaźnikową wykrywającą TRSV, a objawy obecności tego wirusa to nekrotyczne plamki lokalne, systemiczne objawy zaś mają postać plamek pierścieniowych. Wynik tego testu jest jednak dyskusyjny – objawy lokalne odpowiadały oczekiwanym, jednak nie pojawiły się objawy systemiczne. Borówka ta była też testowana na ogórku, na którym nie zaobserwowano żadnych objawów; negatywny był również wynik reinokulacji na *Chenopodium quinoa*. Wątpliwe jest, aby przyczyną obserwowanych na borówce objawów był wirus pierścieniowej plamistości tytoniu.

We wszystkich obserwowanych nasadzeniach występowały krzewy, na których pojawiły się objawy mogące wskazywać na infekcję przez wirusy porażające borówkę wysoką. W czasie prowadzonych badań nie potwierdzono jednak obecności wirusów w żadnym z testowanych krzewów.

LITERATURA

- Brunt A.A., Crabtree K., Dallwitz M.J., Gibbs A.J., Watson L., Zurcher, E.J. 1996. Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database. Version: 20th August 1996.
- Caruso F.L., Ramsdell D.C. 1995. Compendium of blueberry and cranberry diseases. APS Press, St Paul, MN.
- Ciuffo M., Pettiti D., Gallo S., Masegna V., Turina M. 2005. First report of Blueberry scorch virus in Europe. *Plant Pathol.* **54**: 565.
- Clark M.F., Adams A.N. 1977. Characteristic of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* **34**: 475-483.
- Converse R.H. 1987. Virus Diseases of Small Fruits. USDA Agriculture Handbook No. 631.
- Diekman M., Frison E.A., Putter T. 1994. FAO/IPGRI Technical guidelines for the safe movement of small fruit germplasm. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome/International Plant Genetic Resources Institute, Rome.
- Lesney M.S., Ramsdell D.C., Sun M. 1978. Etiology of blueberry shoestring disease and some properties of the casual virus. *Phytopathology.* **68**: 295-300.
- Martin R.R. 2001. Recommended procedures for detection of viruses of small fruit crops. *Acta Hort.* **551**: 113-123.
- Nowak B., Witek A. 2006. Wstępne wyniki badań nad występowaniem wirusów na borówce w Polsce południowo-wschodniej. W: „Uprawa borówki i żurawiny” – Materiały Międzynarodowej Konferencji, Skierńewice 19-22 czerwca 2006: 128-130.
- Paduch-Cichal E., Nowak B. 2008. Wirusowe choroby borówki wysokiej. *Post. Nauk Rol.* **6**: 41- 54.
- Pliszka K. (red). 2008. Borówka wysoka. Jak rozpoznać choroby, szkodniki i niewłaściwe nawożenie. Officina Botanica. Kraków.