

**RAZVOJ NOVIH DIAGNOSTIČNIH METOD ZA DOLOČANJE IZOLATOV  
GLIVE *Verticillium albo-atrum* NA HMELJU**Sebastjan RADIŠEK<sup>1</sup>, Jernej JAKŠE<sup>2</sup>, Branka JAVORNIK<sup>3</sup><sup>1</sup>Oddelek za varstvo rastlin, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije<sup>2,3</sup>Center za rastlinsko biotehnologijo in žlahtnjenje, Biotehniška fakulteta**IZVLEČEK**

Hmeljni izolati gliv *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold in *V. dahliae* Klebahn so zaradi povzročanja velike gospodarske škode v hmeljarstvu uvrščeni na EPPO A2 seznam karantenskih organizmov. Omenjeni glivi sta razširjeni na večini hmeljarskih območij Evrope, pri čemer izolati glive *V. albo-atrum* povzročajo največ težav pridelavi hmelja. V Sloveniji sta bila z uporabo patogenih testov identificirana dva različno virulentna hmeljna patotipa PG1 in PG2 glive *V. albo-atrum* od katerih se je slednji pojavil leta 1997. Patotip PG2 je trenutno omejen na območje zahodnega dela Savinjske doline, kjer vsako leto povzroča letalno obliko hmeljeve uvelosti ter posledično propadanje hmeljišč. Identifikacija patotipov je bila potrjena tudi z AFLP molekularno analizo in odkritjem 17 patotipsko specifičnih DNA fragmentov. V raziskavi smo na osnovi odkritih DNA fragmentov razvili patotipsko specifične začetne oligonukleotide (SCAR), katerih specifičnost v PCR namnoževanju smo preizkusili na izolatih gliv *V. albo-atrum* in *V. dahliae* iz različnih geografskih območij, gostiteljskih rastlin in na nekaterih pogosteje zastopanih vrstah talnih gliv. Visoko specifične markerje smo nadalje uporabili pri razviju diagnostičnega testa z »multipleks« PCR metodo, ki omogoča hitro in zanesljivo določanje obeh hmeljnih patotipov. Z namenom testiranja rastlin brez predhodne izolacije gliv in rastlin, ki ne izražajo bolezenskih znamenj, smo uspešno razvili tudi »nested« PCR metodo za določanje zastopanosti izolatov patotipa PG2 v hmeljnih rastlinah.

Ključne besede: hmelj, Slovenija, *Verticillium albo-atrum*, *Verticillium dahliae*, diagnostične metode

**ABSTRACT****DEVELOPMENT OF DIAGNOSTICS METHODS FOR DETECTION OF *Verticillium albo-atrum* ISOLATES FROM HOP**

Hop isolates of *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold and *V. dahliae* have caused major economic damage in the hop growing industry, and have therefore been included in the EPPO A2 list of quarantine organisms. These fungi exist in the majority of European hop growing areas, with *V. albo-atrum* being the principal pathogen. In Slovenia, pathogenicity tests have identified two *V. albo-atrum* hop pathotypes, PG1 and PG2. The latter appeared in 1997, and has since been causing the lethal form of hop wilt, resulting in the destruction of hop gardens. Pathotype identification has also been confirmed by AFLP molecular analysis, and 17 pathotype specific DNA fragments have been identified. Based on these DNA fragments, we developed hop pathotype specific primers (SCAR), the PCR amplification specificity of which were tested on *V. albo-atrum* and *V. dahliae* isolates from different geographical regions, hosts, as well as in some isolates of common saprotrophic soil fungi. Highly specific markers were further used in the development of »multiplex« PCRs, which enable quick and reliable identification of PG1 and PG2 hop pathotypes. In addition, »nested« PCR analysis for PG2 detection was employed for testing plants without previous fungi isolation and symptomless plants.

Key words: hop, Slovenia, *Verticillium albo-atrum*, *Verticillium dahliae*, diagnostic methods

<sup>1</sup>dr., Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec

<sup>2</sup>dr., uni. dipl. inž. agr. Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana

<sup>2</sup>prof. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana