



## ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

### A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

#### 1.Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

<b>Šifra projekta</b>	J4-4153
<b>Naslov projekta</b>	Uporaba kombinacije tehnike naslednje generacije določevanja nukleotidnih zaporedij in metagenomske analize v diagnostiki pojava hmeljeve zakrnelosti
<b>Vodja projekta</b>	16379 Jernej Jakše
<b>Tip projekta</b>	J Temeljni projekt
<b>Obseg raziskovalnih ur</b>	6891
<b>Cenovni razred</b>	
<b>Trajanje projekta</b>	07.2011 - 06.2014
<b>Nosilna raziskovalna organizacija</b>	481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
<b>Raziskovalne organizacije - soizvajalke</b>	416 Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije 1539 Univerza v Ljubljani, Fakulteta za računalništvo in informatiko
<b>Raziskovalno področje po šifrantu ARRS</b>	4 BIOTEHNIKA 4.03 Rastlinska produkcija in predelava 4.03.01 Kmetijske rastline
<b>Družbeno-ekonomski cilj</b>	08. Kmetijstvo
<b>Raziskovalno področje po šifrantu FOS</b>	4 Kmetijske vede 4.04 Kmetijska biotehnologija

### B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

#### 2.Povzetek raziskovalnega projekta<sup>1</sup>

SLO

V letu 2006-07 so pridelovalci hmelja v Savinjski dolini poročali o pojavu rastlin, ki so izražale izrazita znamenja zakrnelosti pri več različnih sortah hmelja. Vzorec širjenja bolezni je kazal mehanski način prenosa bolezni, ki je značilen za

agrotehnične ukrepe. Okužene rastline hmelja so dosegle le do 50 % normalne višine rasti, kar se je stopnjevalo še v naslednjih letih in je privelo do popolnega propada. Agresivnost in resnost opisane bolezni in hitrost njenega širjenja sta zahtevali hitro ukrepanje, kar je bilo omogočeno v sklopu tega ARRS projekta. S tem projektom nam je bilo omogočeno izvesti več sklopov nalog in osvojiti specifično znanje in naslednja dognanja: 1) hitro in nedvoumno identifikacijo patogena, 2) primerjati odgovor transkriptoma okuženih in neokuženih rastlin, 3) razvoj metode za rutinsko detekcijo odkritega patogena in 4) epidemiološko študijo in izdelavo smernic za pravilno ravnanje z boleznijo in za njeno omejitve. Za odkritje patogena smo uporabili metagenomski pristop določevanja nukleotidnih zaporedij celokupne RNA in frakcije malih RNA s tehnikami naslednje generacije sekvenciranja (NGS) in medsebojne primerjave zdravih in obolelih rastlin. V sklopu teh nalog smo uspešno osvojili potrebne postopke obdelave NGS podatkov, de-novo sestavljanja zaporedij, kartiranja zaporedij na referenco in primerjave rezultatov s podatkovnimi zbirkami. Z opisanimi postopki smo nedvoumno določili novega patogena pri hmelju – citrus bark cracking viroid (CBCVd). Odkritje CBCVd nam je omogočilo izdelavo hitrega identifikacijskega testa na osnovi RT-PCR, ki se sedaj rutinsko uporablja v diagnostične namene na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije v Žalcu. Sklop raziskav projekta je bil tudi usmerjen v analizo in odkritje genov, ki se različno izražajo v skupini obolelih in zdravih rastlin. Za ta namen, smo uporabili dva različna raziskovalna pristopa, ki sta vključevala tudi pridobitev detajlnega transkriptom hmelja. Prvi je bil RNA-seq analiza in primerjava zdravega in obolelega vzorca transkriptoma hmelja sorte Celeia, kjer smo določili 32 statistično različno izraženih transkriptov hmelja. Pri drugem pa smo testirali hipotezo ali lahko male RNA, ki izvirajo iz viroida, utišajo rastlinske izbrane mRNA. Ta pristop je temeljil na bioinformatski identifikaciji rastlinskih tarč. Izražanje izbranih transkriptov smo nato preverili še v RT-qPCR eksperimentu. V sklopu epidemiološke študije smo s simulacijo mehanskega prenosa potrdili visok infekcijski potencial CBCVd in izključili veliko skupino analiziranih plevelov kot morebitni naravni rezervoar patogena. Na osnovi identifikacije povzročitelja in epidemioloških analiz smo za pridelovalce izdelali podrobna navodila za preprečevanje bolezni. Navodilo je bilo v sodelovanju s Fitosanitano upravo RS izdano tudi v obliki zloženke.

ANG

In 2006/07 hop growers from the Savinja valley reported the occurrence of hop plants with significant signs of stunted growth, which was encountered in different hop varieties. Infected hop plants achieved only 50% of the normal plant height. The situation worsened in the following years with complete die-back of the plants after a few years. The aggressiveness and severity of the described hop disease required immediate action, which was enabled within the framework of this project funded by the Slovenian Research Agency. During the course of this project, we were able to complete several sets of tasks and obtain specific knowledge and important findings: 1) quick and accurate pathogen identification, 2) comparison of the transcriptomes of infected and uninfected hop plants, 3) development of a method for routine detection of the identified pathogen, 4) epidemiologic study and formation of guidelines for correct handling and containment of the disease. We used a metagenomics approach of nucleotide sequence determination of total RNA and a fraction of small RNA molecules, applying next generation sequencing technologies (NGS) for pathogen identification and for comparison of healthy and infected plants. We thus succeeded in NGS data analysis, de-novo assembly of the sequences, mapping the sequences to the reference and comparing the results with the databases. Using the described methods, we identified with certainty a new hop pathogen – citrus bark cracking viroid (CBCVd). Identification of CBCVd enabled us to develop a RT-PCR-based test for quick identification of the pathogen, which is now routinely used at the Slovenian Institute for Hop Research and Brewing. One part of the research was focused on analysing and detecting differentially expressed genes between healthy and infected hop plants. We used two different research approaches for this purpose, which also included the design of the detailed hop transcriptome. The first approach was RNA-seq

analysis and comparison of the transcriptome of an infected hop of the variety Celeia with the transcriptome of an unaffected hop of the same variety, which enabled us to identify 32 statistically relevant differentially express transcripts. In the second approach, we tested the hypothesis that viroid small RNAs can silence hop mRNAs. This approach was based on bioinformatics identification of small RNA targets in plants. We subsequently tested the expression of the selected transcripts with RT-qPCR. By simulation of mechanical transmission in the epidemiological study we confirmed the high infection potential of CBCVd and excluded a group of analysed weeds as a natural reservoir of the pathogen. On the basis of pathogen identification and epidemiological study, we designed detailed instructions for hop growers on how to prevent and handle the disease and diseased material. The instruction was also designed as a brochure for the Administration of the Republic of Slovenia.

### **3.Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu<sup>2</sup>**

Projektna skupina ocenjuje, da je z vsebinskega stališča projekt uspešno realiziran in zaključen. Projekt je imel tri raziskovalne cilje s hipotezami, katere rezultate in zaključke predstavljamo v nadaljevanju.

#### **POIZKUS#1: HITRO ODKRITJE PATOGENA**

V tem sklopu smo izvajali aktivnosti, ki so vodile k odkritju in potrditvi Citrus bark cracking viroda (CBCVd) kot novega povzročitelja obolenja pri hmelju. Aktivnosti so zajemale vzorčenje, izolacijo in analizo RNA vzorcev, NGS sekvenciranje celokupne RNA in malih RNA in metagenomsko bioinformatsko analizo podatkov sekvenciranja.

Za namen vzorčenja rastlinskega materiala smo v sodelovanju s pridelovalcem hmelja g. Škrabarjem dosegli dogovor o najemu dela okuženega hmeljišča v njegovi lasti v izmeri 30 arov, kjer smo imeli konstanten nadzor in dostop do okuženega rastlinskega materiala. Večina aktivnosti vzorčenja in spremeljanja okuženega materiala v tem poizkusu je potekalo na tem hmeljišču, nadaljnje vzorce obolelih rastlin pa smo pridobili tudi v okviru sistematičnega nadzora, ki ga opravlja služba Inštituta za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS).

Za namen odkritja novega patogena smo uporabili metagenomsko določevanje nukleotidnega zaporedja celokupne RNA in frakcije malih RNA. Uporabili tehnologijo določevanja nukleotidnih zaporedij naslednje generacije (NGS) proizvajalca Illumina, kar nam je omogočilo ogromno pokritost pridobljenih zaporedij. S prvim vzorcem celokupne RNA smo žeeli določiti morebitno prisotnost patogenih nukleinskih kislin. Z drugim vzorcem malih RNA pa smo žeeli testirati hipotezo, ali v rastlini hmelja obstajajo male RNA patogena, kot posledica delovanja rastlinske interferenčne RNA poti. Znano je namreč, da rastlinski imunski odgovor velikokrat privede do razreza oz. uničenja patogenu specifičnih zaporedij. Tukaj lahko izpostavimo enormno količino sekvenčnih podatkov, ki smo jih pridobili v tem sklopu projekta: celokupna RNA (nesimptomatski vzorec – 107.629.496, simptomatski vzorec – 102.776.236 parov zaporedij dolžine 100 bp), male RNA (nesimptomatski vzorec 21.449.604 in simptomatski vzorec 11.974.568 zaporedij dolžine 50 bp). Vsa zaporedja pridobljena v sklopu pričujočega projekta smo predložili v NCBI SRA arhiv in so dostopna zainteresiranim raziskovalcem (BioProject PRJNA255711, SRA pristopne številke SRR1525656, SRR1525657, SRR1525658, SRR1525659, SRR1525660). Z inovativnimi bioinformatskimi pristopi, ki smo jih osvojili v času izvajanja projekta (de-novo zlaganje, zlaganje na referenco obeh tipov sekvenčnih zaporedij) smo kot novega patogena pri hmelju določili viroid razbrazdanja citrusov oz. Citrus bark cracking viroid (CBCVd). Sekvenčna analiza je pokazala na možen obstoj večih sekvenčnih variant CBCVd od katerih smo dve tudi potrdili s kloniranjem. Samo odkritje CBCVd pri hmelju je imelo velik odmev v mednarodni raziskovalni skupnosti, rezultat tega je bil tudi, da sta dva člena projektne skupine v letu 2014 za daljše obdobje (3 meseca in 1.5 meseca) obiskala raziskovalno skupino Češke akademije znanosti, ki se ukvarja z viroidi v

Českih Budějovicah (laboratorij prof. Matouška). V času izvajanja aktivnosti tega projekta smo tudi potrdili prisotnost viroide HSVd pri nekaterih vzorcih, nabranih v Sloveniji.

### **POIZKUS#2: Primerjava ravni izražanja genov med bolnimi in zdravimi rastlinami**

Drugi sklop raziskav je bil usmerjen v analizo in odkritje genov, ki se različno izražajo v skupini obolelih in zdravih rastlin. Za ta namen, smo postavili dva različna raziskovalna pristopa. Prvi je bil RNA-seq analiza in primerjava zdravega in obolelega vzorca transkriptoma hmelja sorte Celeia. Pri drugem pa smo testirali hipotezo ali lahko male RNA, ki izvirajo oz viroide, utišajo rastlinske izbrane mRNA.

Najprej smo določili referenčni transkriptom hmelja. Skozi celo leto smo v brezvirusnem nasadu hmelja vzorčili različna tkiva za sekvenciranje referenčnega transkriptoma hmelja. Sekvenciranje smo izvedli z uporabo paired-end protokola 2x100 bp na HiSeq2000 napravi. Sekvenciranje ene linije pretočne celice nam je omogočilo pridobiti kar 348,065,384 zaporedij (174,032,692 parov), vsak dolžine 100 bp. To predstavlja kar 34,8 Gb zaporedij, kar je 10-kratni ekvivalent velikosti genoma hmelja. De-novo sestavljanje transkriptoma hmelja smo izvedli z optimalnimi parametri vs programom CLC Genomics server. Pridobljeni transkriptom je trenutno pri hmelju najobsežnejši in podkrepłen z dobrimi numeričnimi vrednostmi: N50984 bp. Število sosesk transkriptoma je 150.443. Število posekvenciranih zaporedij vključenih v transkriptom je predstavljalo 86% vseh zaporedij, skupna dolžina transkriptoma pa je bila 74.3 Mb. Sledila je detaljna anotacija 150.443 sosesk z orodjem BLAST2GO. Zadetkov v BLAST nr podatkovni bazi je bilo 43.645, pri kar 106.798 soseskah pa ni bilo signifikantnega zadetka. Anotiranim zaporedjem smo uspešno pripisali vloge na ravni bioloških procesov, celičnih komponent in molekularnih funkcij. Transkriptom bomo predložili v NCBI SRA arhiv.

Anotirani transkriptom smo uporabili kot referenco za RNA-seq eksperiment, kjer smo primerjali izražanje genov v vzorcu NGS zaporedij s CBCVd+HLVd okuženega vzorca z vzorcem zdravega hmelja (okuženega samo s HLVd, ki je vseslošno prisoten). Normalizirane podatke smo analizirali s Kai's Z-testom, ki je primeren za naš tip analize in vrednosti popravili z Bonferonijevim korekcijskim faktorjem. Tako smo določili 32 transkriptov, ki kažejo statistično značilno izražanje med vzorcema. Med njimi so po anotaciji izbrali 3 kot morebitne tarče za delovanje viroidnih RNA.

V drugem delu poskusa za določitev tarč, pa smo se poslužili bioinformatskega pristopa. Zaporedje viroidov CBCVd in HLVd smo insilico razrezali na vse možne kombinacije 21 bp, 22 bp in 24bp. Za iskanje morebitnih tarč na katere delujejo od viroide pridobljene male RNA (vdsRNA) smo uporabili dve orodji: The UEA sRNA Workbench in psRNATarget. Znano je, da je eden prvih odgovorov rastline pri napadu patogenov spremembu poti rastlinskih hormonov. Pri identifikaciji tarč vdsRNA smo se osredotočili na štiri rastlinske hormone: etilen, gibereline, jasmonate in salicilno kislino. Za vsak viroid smo nato izbrali med 10 (HLVd) in 20 (CBCVd) morebitnih tarč.

V nadaljnem RT-qPCR poskusu smo izbranim RNA-seq in bioinformatsko izbranim tarčam, na katere lahko delujejo male viroidne RNA, s pomočjo qPCR analize določili nivo ekspresije v treh časovnih točkah. Rastlinski vzorci so zajemali brezviroide rastline, rastline okužene s HLVd in rastline okužene s HLVd in CBCVd. Vključili smo tudi analizo petih s patogenezo povezanih proteinov (PR proteini), za katere je znano, da se izrazijo ob napadu patogenov. Inducirani so kot del sistemskega odgovora rastline. Statistično analizo rezultatov RT-qPCE analitz smo naredili s pomočjo qBASE programa in  $\Delta\Delta Ct$  metode. Rezultati so ponovno pokazali zmanjšano kot tudi zvišano regulacijo posameznih genov. Pri PR proteinih pa smo zaznali njihovo močno izražanje.

Ta del analize je trenutno v fazi pisanja objave.

### **POIZKUS#3: Razvoj hitre in zanesljive metode identifikacije, ki bo temeljila**

**na odkritem zaporedju / zaporedjih patogena, raziskava epidemioloških značilnosti bolezni in izdelava smernic ter navodila za preprečevanje bolezni**

**a) Razvoj metode identifikacije**

Za določevanje novoodkritega CBCVd viroida smo vzpostavili sistem identifikacije, ki temelji na izolaciji RNA iz rastlinskega tkiva in RT-PCR analizi. Identifikacijsko analizo smo uporabili pri proučevanju epidemioloških lastnosti CBCVd v okviru projekta, rutinsko pa se sedaj uporablja v diagnostične namene potrjevanja prisotnosti CBCVd v hmeljiščih. Metoda je robustna in ponovljiva.

**b) Epidemiološke značilnosti bolezni**

**b1) Proučevanje mehanskega prenosa viroidov:**

Z namenom proučitve mehanskega prenosa viroidov HLVd in CBCVd, smo izvedli simulacijski poskus v katerem smo simulirali prenos viroidov v času rezi hmelja. Poskus smo izvedli na brezviroidnih rastlinah sorte Dana, ki smo jih okuževali preko rezi poganjkov z uporabo inokuliranih skalpelov. Kot vir okužbe smo uporabili donorské rastline s potrjeno prisotnostjo HLVd in CBCVd, ki smo jih izkopali iz hmeljišča in ohranjali v rastni komori. Sok donorských rastlin smo pripravili s homogenizacijo listov. Skalpele smo namočili v sok in jih uporabili v 7 različnih obravnavanjih v obsegu po 10 rastlin. Uspešnost inokulacije smo preverjali z RT-PCR tehniko. V primeru obravnavanj 1 in 2 smo prvo leto izvajali analize in vzorčenja vsakih 14 dni, medtem ko smo v primeru ostalih obravnavanj rastline analizirali pred nastopom dormance. Naslednje leto smo vse rastline testirali v mesecu maju in septembru. Rezultati so pokazali višjo stopnjo infektivnosti HLVd, saj smo v primeru 1 in 2 ugotovili prenos na 60% rastlin, medtem ko se je infektivnost CBCVd gibala med 10-30%. Prav tako je HLVd pokazal višji nivo stabilnosti, saj so bili skalpeli infektivni še 14 dni po nanosu soka donorských rastlin, v primeru CBCVd, pa po 7 dneh ni bilo zaznati okužb.

**b2) Pilotno testiranje plevelov na prisotnost CBCVd**

Z namenom ugotovitve plevelov kot potencialnih rastlin na katerih se lahko ohranja CBCVd smo v okuženem nasadu vzorčili in z RT-PCR testirali naslednje plevelne vrste: *Polygonum persicaria*, *Chenopodium album*, *Polygonum aviculare*, *Galinsoga parviflora*, *Capsella bursa pastoris*, *Convolvulus arvensis*, *Solanum nigrum*, *Rumex obtusifolius*, *Symphytum officinale* in *Amaranthus retroflexus*. Z RT-PCR analizo nismo potrdili prisotnosti CBCVd pri nobeni od vzorčenih plevelnih vrst.

**c) Izdelava podrobnih navodil za preprečevanje bolezni**

Na osnovi identifikacije povzročitelja in epidemioloških analiz smo za pridelovalce izdelala podrobna navodila za preprečevanje bolezni. Navodilo je bilo v sodelovanju s Fitosanitano upravo RS izданo tudi v obliki zloženke. Navodila so dostopna na spletnih straneh Inštituta za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije.

**4.Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev<sup>3</sup>**

Raziskovalna skupina ocenjuje, da smo v času izvajanja projekta uspešno realizirali zastavljen program dela in predvidene raziskovalne cilje:

**1) Odkritje novega patogena**

V tem sklopu smo uporabili inovativen metagenomskega pristop iskanja povzročitelja obolenja podprtega z močjo naslednjih generacij določevanja nukleotidnih zaporedij (NGS). Pravilno smo predvidevali, da nam bo ta način omogočil nedvoumno odkritje patogena. Z dvema skupinama posekvenciranih RNA molekul in detajlno bioinformatsko analizo smo določili viroid razbrazdanja citrusov (CBCVd) kot nedvoumnega povzročitelja tega obolenja pri hmelju. Osvojili smo tudi napredne bioinformatske veščine (manipulacija NGS podatkov, de-novo zlaganje zaporedij, mapiranje zaporedij na referenco, iskanje in primerjava velikih setov podatkov s podatkovnimi bazami). Metoda sekvenciranja

malih RNA se je pokazala tudi kot izredno uporabna v rutinski diagnostiki virusov in viroidov in je cenovno dostopna.

### 2) Primerjava izražanja genov

Tudi v drugem sklopu primerjave izražanja ravni genov smo uporabili NGS sekvenciranje in osvojili bioinformatske postopke. Pridobili smo globoko posekvenciran transkriptom hmelja v skupni dolžini 74 Mb in ga anotirali. Transkriptom bo omogočal raziskovalno delo tudi drugim raziskovalnim skupinam oz. bo uporabljen tudi v drugih projektih naše raziskovalne skupine. RNA-seq analiza je pokazal na relativno nizko število diferencialno izraženih transkriptov pri hmelju med vzorcema s prisotnim oziroma odsotnim CBCVd (32 transkriptov). To je lahko posledica tega, da sta oba vzorca bila okužena s HLVd in da oba viroida spremenita izražanje enaki/podobni skupini genov. Poleg tega načina iskanja ravni izražanja genov smo uporabili tudi bioinformatsko metodo določevanja morebitnih tarč delovanja malih viroidnih RNA. Tako CBCVd kot HLVd sta pokazala nekaj skupnih, pa tudi različnih tarč delovanja. V nadalnjem postopku izbora smo se osredotočili na transkripte povezane s potmi odgovora rastline na patogena in

Izbranim tarčam (30) skupaj s petimi geni za proteine povezane s patogenezo (PR) smo preverili izražanje na treh različnih skupinah rastlin v različnih tkivih. PR geni so v viroidnih rastlinah pokazali znatno povišano izražanje, medtem ko so ostale tarče kazale tako zvišano kot znižan profil izražanja. Zaključimo lahko, da je delovanje viroidov na rastlino bolj kompleksno in ni povezano samo z utišanjem izbranih genov.

3) Metoda identifikacije, epidemiologija patogena in smernice za pridelovalce  
V tem sklopu smo uspešno razvili metodo identifikacije CBCVd viroida, ki temelji na RT-PCR. Metoda se sedaj uporablja v rutinski diagnostiki na IHPS.

Študija plevelnih vrst kot morebitnih rezervoarjev bolezni ni pokazala na okuženost pogostih plevelov hmeljišč s CBCVd. Še vedno ostaja odprto vprašanje, kako je prišlo do prenosa CBCVd viroida na hmelj.

V sklopu izobraževanja pridelovalcev in zainteresirane javnosti glede CBCVd smo izdali zloženko z navodili kako ravnati v primeru odkritja okužbe.

### 5.Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine<sup>4</sup>

V času trajanja projekta ni bilo bistvenih odstopanj ali sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta.

V letu 2013 sta iz projektne delovne skupine izstopila raziskovalca Fakultete za računalništvo in informatiko. Njihove aktivnosti so zapolnili člani iz projektne skupine Biotehniške fakultete, potrebe po spremembah raziskovalnega programa ni bilo.

### 6.Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine<sup>5</sup>

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	7028857	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Prvo poročilo viroida zakrnelosti hmelja v Sloveniji	
		<i>ANG</i> First report of Hop stunt viroid infecting hop in Slovenia	
	Opis	<i>SLO</i> Delo opisuje prvo poročilo o detekciji viroida zakrnelosti hmelja (HSVd) v Sloveniji.	
		<i>ANG</i> The paper describes first report on detection of hop stunt viroid (HSVd) in Slovenia.	
	Objavljeno v	American Phytopathological Society; Plant disease; 2012; Vol. 96, No. 4; str. 592; Impact Factor: 2.455; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.941; WOS: DE; Avtorji / Authors: Radišek Sebastjan, Majer Aljaž, Jakše Jernej, Javornik Branka, Matoušek Jaroslav	

	Tipologija	1.03 Kratki znanstveni prispevek	
2.	COBISS ID	632716	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	Biolistični prenos viroida hmeljne zakrnelosti iz slovenskega kultivarja 'Celeia' v češki hmeljni kultivar 'Osvaldov klon 72'
		<i>ANG</i>	Biological transfer of hop viroid disease syndrome from Slovenian cultivar 'Celeia' to Czech hop 'Osvald's 72'
	Opis	<i>SLO</i>	V pričujočem delu smo s kolegi iz Češke raziskali novo viroidno obolenje, odkrito v Sloveniji. Viroid smo v izolaciji prenesli s pomočjo biolistične metode na češki hmelj. Kultivar 'Osvaldov klon 72' je kmalu po okužbi pokazal kompleks izrazitih simptomov, ki so bili primerljivi s temi na kultivarju 'Celeia', in so vključevali počasno rast, spremembe listov, majhne liste in pogoste mozaičnosti, ki niso bile povezane z virusno infekcijo. Analizirali smo tudi viroid v inokuliranih hmeljih, ki so preživeli infekcijo. Detektirali smo populacijo dveh viroidov v listih HpSVd in CVdIV zaporedje, ki pa je bilo skrajšano. V nekaterih primerih smo HpSVd detektirali s prenosom po Northernu, ne pa z RT-PCR metodo, kar lahko kaže na spremembo viroidnih zaporedij po okužbi. V nadaljevanju smo analizirali izražanje večih marker genov, ki so povezani s patogenezo. Odkrili smo, da eksperimentalno inducirano viroidni sindrom pri kultivarju 'Osvaldov klon 72' povzroči deregulacijo in posebno močno utišanje HlbHLH2 transkripcijskega faktorja, ki sodeluje pri regulaciji hmeljenga metaboloma.
		<i>ANG</i>	A viroid disease syndrome that was recently described on Slovenian cultivar 'Celeia' was investigated. The disease was transferred using ballistic approach to Czech hop under isolated experimental conditions. A complex of strong symptoms appeared on cultivar 'Osvald's 72' that was quite comparable to cultivar 'Celeia'; low plant fitness strong stunting, leaf malformation, small (tiny) leaves and frequently visible leaf mosaic, which was not associated with virus infection. Hop stunt viroid (HpSVd) was analyzed in detail in the inoculated Czech hop that survived initial infection. It was confirmed that a population of viroid was detectable in the leaves with a clearly dominant HpSVd cucumber pale fruit viroidlike (HpSVd-cuc) sequence. Besides HpSVd, also traces of truncated Citrus viroid (CVd IV) were detected in surviving ballistically infected hop samples. In some samples, HpSVd was detectable by Northern blots, but not by RT PCR, suggesting some viroid sequence change(s) upon adaptation in hop. An expression of several pathogenesis-associated marker genes were investigated. It was found that experimentally induced viroid syndrome in 'Osvald's 72' led to gene deregulation and especially to strong depression of HlbHLH2 transcription factor participating in metabolome regulation in hop.
	Objavljen v	International Society for Horticultural Science; Proceedings of the IIInd International Humulus Symposium; 2013; Str. 121-127; Avtorji / Authors: Matoušek Jaroslav, Radišek Sebastjan, Jakše Jernej, Duraisamy S. G., Uhliřová K., Oretová L., Svoboda Petr, Patzak J., Rausche J.	
	Tipologija	1.08 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci	
3.	COBISS ID	8056185	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	NGS sekvenciranje je potrdilo viroid CBCVd kot zelo agresiven patogen hmelja
		<i>ANG</i>	Deep-sequencing revealed a CBCVd viroid as a highly aggressive pathogen on hop
			Rastlinske bolezni, ki se pojavijo na novo so stalna grožnja kmetijski pridelavi, zato je potrebna hitra in nedvoumna identifikacija povzročiteljev bolezni, kar omogoča hiter in primeren odziv kmetijske pridelave in tudi njihovih smernic. Klasične metode identifikacije lahko zelo uspešno dopolnimo s tehnikami naslednjih generacij določevanja nukleotidnih

		<p>zaporedij (NGS) tako, da nam analiza zaporedij pomaga odkriti bolezni, ki se na novo pojavi. Pridelovalci hmelja v Savinjski dolini so leta 2007 poročali o pojavu zakrnelih rastlin hmelja, ta fenomen se je hitro širil znotraj hmeljišč in med kmetijskimi posestvi. S klasičnimi diagnostičnimi metodami nismo uspeli določiti novega povzročitelja obolenja, zato smo za njegovo določevanje uporabili tehniko masivnega, vzporednega določevanja nukleotidnih zaporedij celokupne RNA in malih RNA molekul iz simptomatičnih in ne-simptomatičnih rastlin. Sekvence smo de-novo združili v soseske in jih tudi poravnali na referenčne genome. Ta postopek nam je omogočil identifikacijo novega zaporeda patogena hmelja – Citrus bark cracking viroid (CBCVd), ki je bil prisoten v zakrnelih rastlinah. Nadalje smo prisotnost tega novega patogena potrdili tudi z RT-PCR analizo 59-ih simptomatičnih rastlin iz 15-ih hmeljišč, ki so predstavljale glavna okužena žarišča in identificirana v okviru sistematičnega nadzora bolezni. Prisotnost viroida smo potrdili tudi s sekvenciranjem malih RNA v združenem vzorcu teh 59-ih rastlin. Visoko stopnjo infektivnosti na novo identificiranega viroida smo potrdili tudi u biolistično inokulacijo dveh kultivarjev hmelja, ki sta po okuževanju razvila agresivne simptome v kontroliranih pogojih. Pričujoča študija je pokazala zmožnost uporabe NGS metode za identifikacijo povzročiteljev novih bolezni pri hmelju in ostalih rastlinah.</p>
		<p>Newly emerging or re-emerging diseases are a constant and significant threat to agricultural production, so prompt and accurate identification of the causative agents is required for rapid and appropriate disease management. Classical methods of pathogen detection can be successfully supplemented by next-generation sequencing (NGS), whereby sequence analysis can help in the discovery of new or emerging diseases. In 2007, hop growers in Slovenia reported the appearance of severely stunted hop plants, a phenomenon that spread rapidly within hop gardens and among farms. Classical diagnostic methods were unable to detect a new pathogen; therefore, single step high-throughput parallel sequencing of total RNA and small RNAs from plants with and without symptoms was employed to identify a novel pathogen. The sequences were assembled de novo and also mapped to reference genomes, resulting in identification of a novel sequence of Citrus bark cracking viroid (CBCVd) in the stunted hop plants. Furthermore, the presence of this novel pathogen on hop was confirmed by RT-PCR analysis of 59 plants with symptoms from 15 hop gardens, representing the main outbreak locations identified by systematic disease monitoring, and small RNA Illumina sequencing of the bulked RNA sample. The high infectivity of the newly identified CBCVd was also confirmed by biotic inoculation of two hop cultivars, which developed aggressive symptoms in controlled conditions. This study shows the feasibility of deep sequencing for the identification of causative agents of new diseases in hop and other plants.</p>
	Objavljeno v	
	Tipologija	
4.	COBISS ID	7618425
	Naslov	<p>SLO Predstavitev raziskovalnih aktivnosti in rezultatov na kongresih</p> <p>ANG Dissemination of the results at congresses</p>
		<p>Rezultate smo aktivno predstavili na različnih kongresih v obliki predavanj ali postrov:</p> <p>JAKŠE, Jernej, RADIŠEK, Sebastjan, GUČEK, Tanja, POKORN, Tine,</p>

		MATOUŠEK, Jaroslav, JAVORNIK, Branka. Viroid razpokanosti skorje agrumov (CBCVd) nov nevaren patogen na hmelju = Citrus bark cracking viroid (CBCVd) as a new aggressive hop pathogen. V: 12. slovensko posvetovanje o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo, Ptuj, 3.-4. marec 2015. TRDAN, Stanislav (ur.). Izvlečki referatov = Abstract volume. Ljubljana: Društvo za varstvo rastlin Slovenije: = Plant Protection Society of Slovenia, 2015, str. 63-64. [COBISS.SI-ID 8115321]
		POKORN, Tine, ŠTAJNER, Nataša, RADIŠEK, Sebastjan, JAVORNIK, Branka, JAKŠE, Jernej. Viroid derived small RNAs can cause change of expression in selected genes of hops. V: Plant and Animal Genome XXIII. [s.l.: s.n.], 2014-2015, p1067. <a href="https://pag.confex.com/pag/xxiii/webprogram/Paper15000.html">https://pag.confex.com/pag/xxiii/webprogram/Paper15000.html</a> . [COBISS.SI-ID 8109433]
		POKORN, Tine, RADIŠEK, Sebastjan, JAVORNIK, Branka, ŠTAJNER, Nataša, JAKŠE, Jernej. Viroid-derived small RNA (vd-sRNA) target identification in hop. V: DOLENC KOCE, Jasna (ur.), URBANEK KRAJNC, Andreja (ur.), GREBENC, Tine (ur.). Knjiga povzetkov = Book of abstracts. Ljubljana: Slovensko društvo za biologijo rastlin: = Slovenian Society of Plant Biology, 2014, str. 57. [COBISS.SI-ID 7996025]
Opis	SLO	RADIŠEK, Sebastjan, GUČEK, Tanja, JAKŠE, Jernej, KNAPIČ, Vlasta, BENKO-BELOGLAVEC, Anita, PAVLIČ, Ema, MATOUŠEK, Jaroslav, JAVORNIK, Branka. Appearance and management of hop stunt disease in Slovenia. V: 14th Mediterranean Phytopathological Union (MPU) Congress [and] International Society of Mycotoxicology (ISM) Congress, 25-29 August 2014 Istanbul, Turkey. HEPERKAN, Dilek (ur.), DASKAYA-DIKMEN, Ceren (ur.), ERTUGRUL-CENGIZ, Sibel (ur.). Plant health management for ensuring food security, safety and quality in the Mediterranean area : challenges and prospects : [abstract book]. Istanbul: Istanbul Technical University, Chemical & Metallurgical Engineering Faculty, Department of Food Engineering, 2014, str. 131. [COBISS.SI-ID 654476]
		JAKŠE, Jernej, POKORN, Tine, RADIŠEK, Sebastjan, JAVORNIK, Branka. NGS sequencing for new phytopathogen discovery. V: Casym Training Event Systems Medicine of Multifactorial Disorders Workshop & Tutorial and 8th CFGBC Symposium, Ljubljana, 12-15 June 2013. AČIMOVIČ, Jure (ur.), PROSENC, Uršula (ur.), JUVAN, Peter (ur.). Book of abstracts. Ljubljana: Faculty of Medicine, 2013, str. 11. [COBISS.SI-ID 7668601]
		JAKŠE, Jernej, POKORN, Tine, RADIŠEK, Sebastjan, JAVORNIK, Branka. Novel viroid in hops identified by massive-scale rna sequencing. V: International conference [of the] Plant diseases and resistance mechanisms, Vienna, Austria, 20-22 February 2013 : programme and abstracts. Vienna: VIPCA - Vienna International Plant Conference Association, [2013], str. 51. [COBISS.SI-ID 7470713]
		RADIŠEK, Sebastjan, PERSOLJA, Jolanda, JAKŠE, Jernej, JAVORNIK, Branka, MATOUŠEK, Jaroslav, PAVLIČ, Ema, KNAPIČ, Vlasta. Pojav viroidne zakrnelosti hmelja v Sloveniji = Occurence of hop stunt disease in Slovenia. V: TRDAN, Stanislav (ur.). Izvlečki referatov = Abstract volume. Ljubljana: Društvo za varstvo rastlin Slovenije: = Plant Protection Society of Slovenia, 2013, str. 48. [COBISS.SI-ID 7476089]
		RADIŠEK, Sebastjan, OSET, Matej, ČERENAK, Andreja, JAKŠE, Jernej, KNAPIČ, Vlasta, MATOUŠEK, Jaroslav, JAVORNIK, Branka. Research activities focused on hop viroid diseases in Slovenia. V: SEIGNER, Elisabeth (ur.). Proceedings of the Scientific Commission [of the] CICH - IHB - IHGC,

	<p>International Hop Growers` Convention, Kiev, Ukraine, 4-9 June 2013, (Proceedings of the Scientific Commission, ISSN 1814-2192, 2013). Wolnzach: Scientific Comission, I.H.G.C., 2013, str. 58. [COBISS.SI-ID 7617913]</p> <p>POKORN, Tine, RADIŠEK, Sebastjan, JAVORNIK, Branka, JAKŠE, Jernej. Using small RNA technology to identify viroids on hop. V: SEIGNER, Elisabeth (ur.). Proceedings of the Scientific Commission [of the] CICH - IHB - IHGC, International Hop Growers` Convention, Kiev, Ukraine, 4-9 June 2013, (Proceedings of the Scientific Commission, ISSN 1814-2192, 2013). Wolnzach: Scientific Comission, I.H.G.C., 2013, str. 59. [COBISS.SI-ID 7618169]</p> <p>RADIŠEK, Sebastjan, JAKŠE, Jernej, KNAPIČ, Vlasta, PAVLIČ, Ema, MATOUŠEK, Jaroslav, JAVORNIK, Branka. Outbreaks and management of hop stunt disease in Slovenia. V: III international Humulus symposium, 9th - 14th 2012, Zatec, Czech Republic : book of abstracts. [s.l.: ISHS, 2012], str. 37. [COBISS.SI-ID 7296377]</p> <p>JAKŠE, Jernej, POKORN, Tine, RADIŠEK, Sebastjan, JAVORNIK, Branka. Next generation sequencing as a diagnostic tool for new pathogen discovery in hops. V: III international Humulus symposium, 9th - 14th 2012, Zatec, Czech Republic : book of abstracts. [s.l.: ISHS, 2012], str. 38. [COBISS.SI-ID 7296633]</p> <p>POKORN, Tine, RADIŠEK, Sebastjan, JAVORNIK, Branka, JAKŠE, Jernej. Detection of HLd and HSVd viroids in hop plants. V: Smotra stručno radova studenata agronomije sa međunarodnim učešćem : zbornik radova = Conference of agronomy students with international participations : proceedings : Banja Luka, 9. - 10. oktobar 2012. Banja Luka: Poljoprivredni fakultet, 2012, str. 32-37. [COBISS.SI-ID 7293049]</p> <p>RADIŠEK, Sebastjan, LESKOVŠEK, Lucija, FERANT, Nataša, ČERENAK, Andreja, OSET LUSKAR, Monika, KOŠIR, Iztok Jože, PERSOLJA, Jolanda, MAJER, Aljaž, JAKŠE, Jernej, JAVORNIK, Branka. Aktivnosti in raziskave na področju viroidnih obolenj hmelja v Sloveniji = Activities and researches of hop viroid diseases in Slovenia. V: 48. seminar o hmeljarstvu z mednaodno udeležbo, Portorož, 3. in 4. februar 2011 = 48th Hop seminar with interantional participation, Portorož, February 3-4 2011. KOLENC, Uroš (ur.). Izvlečki referatov = Abstract volume. Žalec: Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo, 2011, str. 23-24. [COBISS.SI-ID 548748]</p>
	<p>Results were actively presented at several conferences as oral or poster presentations:</p> <p>JAKŠE, Jernej, RADIŠEK, Sebastjan, GUČEK, Tanja, POKORN, Tine, MATOUŠEK, Jaroslav, JAVORNIK, Branka. Viroid razpokanosti skorje agrumov (CBCVd) nov nevaren patogen na hmelju = Citrus bark cracking viroid (CBCVd) as a new aggressive hop pathogen. V: 12. slovensko posvetovanje o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo, Ptuj, 3.-4. marec 2015. TRDAN, Stanislav (ur.). Izvlečki referatov = Abstract volume. Ljubljana: Društvo za varstvo rastlin Slovenije: = Plant Protection Society of Slovenia, 2015, str. 63-64. [COBISS.SI-ID 8115321]</p> <p>POKORN, Tine, ŠTAJNER, Nataša, RADIŠEK, Sebastjan, JAVORNIK, Branka, JAKŠE, Jernej. Viroid derived small RNAs can cause change of expression in selected genes of hops. V: Plant and Animal Genome XXIII. [s.l.: s.n.], 2014-2015, p1067.  <a href="https://pag.confex.com/pag/xxiii/webprogram/Paper15000.html">https://pag.confex.com/pag/xxiii/webprogram/Paper15000.html</a>. [COBISS.SI-ID 8109433]</p>

POKORN, Tine, RADIŠEK, Sebastjan, JAVORNIK, Branka, ŠTAJNER, Nataša, JAKŠE, Jernej. Viroid-derived small RNA (vd-sRNA) target identification in hop. V: DOLENC KOCE, Jasna (ur.), URBANEK KRAJNC, Andreja (ur.), GREBENC, Tine (ur.). Knjiga povzetkov = Book of abstracts. Ljubljana: Slovensko društvo za biologijo rastlin: = Slovenian Society of Plant Biology, 2014, str. 57. [COBISS.SI-ID 7996025]

RADIŠEK, Sebastjan, GUČEK, Tanja, JAKŠE, Jernej, KNAPIČ, Vlasta, BENKO-BELOGLAVEC, Anita, PAVLIČ, Ema, MATOUŠEK, Jaroslav, JAVORNIK, Branka. Appearance and management of hop stunt disease in Slovenia. V: 14th Mediterranean Phytopathological Union (MPU) Congress [and] International Society of Mycotoxicology (ISM) Congress, 25-29 August 2014 Istanbul, Turkey. HEPERKAN, Dilek (ur.), DASKAYA-DIKMEN, Ceren (ur.), ERTUGRUL-CENGIZ, Sibel (ur.). Plant health management for ensuring food security, safety and quality in the Mediterranean area : challenges and prospects : [abstract book]. Istanbul: Istanbul Technical University, Chemical & Metallurgical Engineering Faculty, Department of Food Engineering, 2014, str. 131. [COBISS.SI-ID 654476]

JAKŠE, Jernej, POKORN, Tine, RADIŠEK, Sebastjan, JAVORNIK, Branka. NGS sequencing for new phytopathogen discovery. V: Casym Training Event Systems Medicine of Multifactorial Disorders Workshop & Tutorial and 8th CFGBC Symposium, Ljubljana, 12-15 June 2013. AČIMOVIČ, Jure (ur.), PROSENC, Uršula (ur.), JUVAN, Peter (ur.). Book of abstracts. Ljubljana: Faculty of Medicine, 2013, str. 11. [COBISS.SI-ID 7668601]

**ANG** JAKŠE, Jernej, POKORN, Tine, RADIŠEK, Sebastjan, JAVORNIK, Branka. Novel viroid in hops identified by massive-scale rna sequencing. V: International conference [of the] Plant diseases and resistance mechanisms, Vienna, Austria, 20-22 February 2013 : programme and abstracts. Vienna: VIPCA - Vienna International Plant Conference Association, [2013], str. 51. [COBISS.SI-ID 7470713]

RADIŠEK, Sebastjan, PERSOLJA, Jolanda, JAKŠE, Jernej, JAVORNIK, Branka, MATOUŠEK, Jaroslav, PAVLIČ, Ema, KNAPIČ, Vlasta. Pojav viroidne zakrnelosti hmelja v Sloveniji = Occurence of hop stunt disease in Slovenia. V: TRDAN, Stanislav (ur.). Izvlečki referatov = Abstract volume. Ljubljana: Društvo za varstvo rastlin Slovenije: = Plant Protection Society of Slovenia, 2013, str. 48. [COBISS.SI-ID 7476089]

RADIŠEK, Sebastjan, OSET, Matej, ČERENAK, Andreja, JAKŠE, Jernej, KNAPIČ, Vlasta, MATOUŠEK, Jaroslav, JAVORNIK, Branka. Research activities focused on hop viroid diseases in Slovenia. V: SEIGNER, Elisabeth (ur.). Proceedings of the Scientific Commission [of the] CICH - IHB - IHGC, International Hop Growers' Convention, Kiev, Ukraine, 4-9 June 2013, (Proceedings of the Scientific Commission, ISSN 1814-2192, 2013). Wolnzach: Scientific Comission, I.H.G.C., 2013, str. 58. [COBISS.SI-ID 7617913]

POKORN, Tine, RADIŠEK, Sebastjan, JAVORNIK, Branka, JAKŠE, Jernej. Using small RNA technology to identify viroids on hop. V: SEIGNER, Elisabeth (ur.). Proceedings of the Scientific Commission [of the] CICH - IHB - IHGC, International Hop Growers' Convention, Kiev, Ukraine, 4-9 June 2013, (Proceedings of the Scientific Commission, ISSN 1814-2192, 2013). Wolnzach: Scientific Comission, I.H.G.C., 2013, str. 59. [COBISS.SI-ID 7618169]

RADIŠEK, Sebastjan, JAKŠE, Jernej, KNAPIČ, Vlasta, PAVLIČ, Ema,

		MATOUŠEK, Jaroslav, JAVORNIK, Branka. Outbreaks and management of hop stunt disease in Slovenia. V: III international Humulus symposium, 9th - 14th 2012, Zatec, Czech Republic : book of abstracts. [s.l.: ISHS, 2012], str. 37. [COBISS.SI-ID 7296377]
		JAKŠE, Jernej, POKORN, Tine, RADIŠEK, Sebastjan, JAVORNIK, Branka. Next generation sequencing as a diagnostic tool for new pathogen discovery in hops. V: III international Humulus symposium, 9th - 14th 2012, Zatec, Czech Republic : book of abstracts. [s.l.: ISHS, 2012], str. 38. [COBISS.SI-ID 7296633]
		POKORN, Tine, RADIŠEK, Sebastjan, JAVORNIK, Branka, JAKŠE, Jernej. Detection of HLd and HSVd viroids in hop plants. V: Smotra stručno radova studenata agronomije sa međunarodnim učešćem : zbornik radova = Conference of agronomy students with international participations : proceedings : Banja Luka, 9. - 10. oktobar 2012. Banja Luka: Poljoprivredni fakultet, 2012, str. 32-37. [COBISS.SI-ID 7293049]
		RADIŠEK, Sebastjan, LESKOVŠEK, Lucija, FERANT, Nataša, ČERENAK, Andreja, OSET LUSKAR, Monika, KOŠIR, Iztok Jože, PERSOLJA, Jolanda, MAJER, Aljaž, JAKŠE, Jernej, JAVORNIK, Branka. Aktivnosti in raziskave na področju viroidnih obolenj hmelja v Sloveniji = Activities and researches of hop viroid diseases in Slovenia. V: 48. seminar o hmeljarstvu z mednaodno udeležbo, Portorož, 3. in 4. februar 2011 = 48th Hop seminar with interantional participation, Portorož, February 3-4 2011. KOLENC, Uroš (ur.). Izvlečki referatov = Abstract volume. Žalec: Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo, 2011, str. 23-24. [COBISS.SI-ID 548748]
	Objavljen v	Scientific Comission, I.H.G.C.; Proceedings of the Scientific Commission [of the] CICH - IHB - IHGC, International Hop Growers` Convention, Kiev, Ukraine, 4-9 June 2013; 2013; Str. 74-77; Avtorji / Authors: Matoušek Jaroslav, Patzak J., Duraisamy S. G., Kocábek T., Krofta Karel, Piernikarczyk R.J.J., Radišek Sebastjan, Jakše Jernej, Steger G.
	Tipologija	1.08 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci
5.	COBISS ID	8084089 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Biologija interakcij med rastlinami in viroidi <i>ANG</i> Biology of plant viroid interactions
	Opis	<i>SLO</i> Viroidi so najmanjši rastlinski patogeni, katerih genom je kratka, enoverižna, nekodirajoča, krožna molekula RNA. Okužijo lahko tako kulturne kot okrasne rastline in povzročajo bolezni, ki imajo ekonomsko pomemben vpliv. obramba rastline pred viroidi poteka preko mehanizma utišanja RNA. Viroidi se zaradi kompaktne sekundarne strukture in lokalizacije v organelih temu mehanizmu lahko izognejo in mehanizem utišanja RNA obrnejo v svojo korist, tako, da sami utišajo izbrane gene svojih gostiteljev. Preko mehanizma utišanja RNA lahko viroidi utišajo gene povezane z obrambo rastline, prenosom signala, strukturo celične stene in številne druge. To vodi v razvoj simptomov, kot so zaostajanje v rasti, zvijanje listov, nekroze stebla in listov, izkriviljenje plodov, v nekaterih primerih pa lahko rastline tudi odmrejo. Za lažje preprečevanje bolezni je ključnega pomena razumevanje mehanizma viroidne okužbe in odgovora rastline.  <i>ENG</i> Viroids are the smallest plant pathogens; their genome is short, single-stranded, non-coding, circular RNA molecule. They can infect cultural and ornamental plants and cause diseases that have a major economical impact. The plants defence against viroid pathogens is based on the mechanism of RNA silencing. Viroids can avoid this mechanism due to compact secondary structure and localization in organelles. Furthermore

		<i>ANG</i>	they can turn mechanism of RNA silencing in their favour, therefore they are able to silence selected host genes. By using the RNA silencing mechanism viroids can silence genes associated with plant defence, signal transmission, cell wall structure and many others. This leads to the development of symptoms such as dwarfing, leaf curling, stem and leaves necrosis, distortion of the fruits, in some cases, plants may also die. In order to facilitate disease prevention, it is crucial to understand the mechanism of viroid infection.
Objavljeno v			Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo; Hmeljarski bilten; 2014; 21; str. 27-37; Avtorji / Authors: Guček Tanja, Radišek Sebastjan, Jakše Jernej, Javornik Branka
Tipologija	1.02		Pregledni znanstveni članek

## 7.Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine<sup>6</sup>

	Družbeno-ekonomski dosežek		
1.	COBISS ID		Vir: vpis v poročilo
	Naslov	<i>SLO</i>	Določitev hop stunt viroida
		<i>ANG</i>	Occurence of hop stunt viroid
	Opis	<i>SLO</i>	Rezultati projekta so prispevali k odkritju hop stunt viroida (HSVd) v nekaterih simptomatičnih rastlinah, ki spada med najnevarnejše povzročitelje bolezni na hmelju. Na osnovi te potrditve je bila s strani Fitosanitarne uprave RS izdana Odločba o nujnih ukrepih za preprečevanje vnosa in širjenja viroidne zakrelnosti hmelja (Uradni list RS, št. 64/2011 z dne 12. avgust 2011), ki določa izvajanje posebnega nadzora, določitev okuženih območij in fitosanitarne ukrepe, za preprečevanje širjenja.
		<i>ANG</i>	The results of the project enabled us to discover hop stunt viroid sequence (HSVd) in some of the symptomatic plants, which is important disease of hops. Based on this results, the preventive measures were taken by Phytosanitary administration of RS (Uradni list RS, no. 64/2011 12. avgust 2011).
	Šifra	F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin
	Objavljeno v		Uradni list RS, št. 64/2011 z dne 12. avgust 2011
	Tipologija	3.25	Druga izvedena dela
	COBISS ID	7266169	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	Globoko sekvenciranje RNA kot diagnostično orodje za odkrivanje novih patogenov
		<i>ANG</i>	In-depth sequencing of RNA as a diagnostic tool for new pathogen discovery
2.	Opis	<i>SLO</i>	Vabljeno predavanje na mednarodni konferenci Slovenskega genetskega društva, kjer smo predstavili rezultate analize NGS podatkov za odkrivanje novega patogena.
		<i>ANG</i>	Invited lecture at international conference of the Genetic Society of Slovenia, where results of analysis of NGS data for new pathogen discovery were presented.
	Šifra	B.04	Vabljeno predavanje
	Objavljeno v		Genetic Society of Slovenia; Genetika 2012; 2012; Str. 53; Avtorji / Authors: Jakše Jernej, Pokorn Tine, Radišek Sebastjan, Javornik Branka
		1.10	

	Tipologija	Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci (vabljeno predavanje)	
3.	COBISS ID	7296633	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	Sekevnciranje naslednjih generacij kot diagnostično orodje za odkrivanje novih patogenov pri hmelju
		<i>ANG</i>	Next generation sequencing as a diagnostic tool for new pathogen discovery in hops
	Opis	<i>SLO</i>	Predavanje na tretjem mednarodnem ISHS Humulus simpoziju, kjer smo predstavili možnosti NGS sekvensiranja za določevanje neznanih patogenov.
		<i>ANG</i>	Lecture at III International Humulus symposium organized by ISHS. We presented the data on use of NGS sequencing for detection of new pathogens.
	Šifra	B.03	Referat na mednarodni znanstveni konferenci
	Objavljeno v	ISHS; III international Humulus symposium, 9th - 14th 2012, Zatec, Czech Republic; 2012; Str. 38; Avtorji / Authors: Jakše Jernej, Pokorn Tine, Radišek Sebastjan, Javornik Branka	
	Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci	
	COBISS ID	7471481	Vir: COBISS.SI
4.	Naslov	<i>SLO</i>	Viroidna zakrnelost hmelja
		<i>ANG</i>	Hop stunt viroid disease
	Opis	<i>SLO</i>	Na podlagi odkritja novega viroidnega povzročitelja smo izdali smernice in navodila za pridelovalce v obliki pisnih ukrepov za preprečevanje širjenja viroidne zakrnelosti hmelja. Zgibanka je prosti dostopna na internetu ali v tiskani obliki.
		<i>ANG</i>	After the identification of the new viroid presence in hops detailed guidelines and directions for hop growers were published. They are aimed to prevent spreading and for management of hop stunt disease. Flyer is available on internet or as a hardcopy.
	Šifra	F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso
	Objavljeno v	Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije; 2013; 1 zgibanka; Avtorji / Authors: Radišek Sebastjan, Rak Cizej Magda, Leskošek Gregor, Kolenc Uroš, Jakše Jernej, Javornik Branka, Pavlič Ema, Knapič Vlasta	
	Tipologija	2.06 Enciklopedija, slovar, leksikon, priročnik, atlas, zemljevid	
	COBISS ID	7617657	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	Mednarodno priznanje IHGC v znak sodelovanja z industrijo

	ANG	achievements in hop research and for the transfer of research results to practice. The research group of B.Javornik has close collaboration with hop breeders, providing them with biotechnological tools for the improvement of effectiveness in hop breeding. The research group has also developed various diagnostic methods for the detection of hop pathogens, including methods for the detection of hop viroid and for the detection of the lethal pathotype of <i>Verticillium alboatrum</i> that are currently used as routine methods.
Šifra	E.02	Mednarodne nagrade
Objavljen v		Scientific Comission, I.H.G.C.; Proceedings of the Scientific Commission [of the] CICH - IHB - IHGC, International Hop Growers' Convention, Kiev, Ukraine, 4-9 June 2013; 2013; Str. 57; Avtorji / Authors: Jakše Jernej, Rot Gregor, Jelen Vid, Radišek Sebastjan, Mandelc Stanislav, Majer Aljaž, Zupan Blaž, Javornik Branka
Tipologija	1.12	Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci

## 8.Druži pomembni rezultati projetne skupine<sup>7</sup>

--

## 9.Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine<sup>8</sup>

### 9.1.Pomen za razvoj znanosti<sup>9</sup>

SLO

V okviru projekta se je za proučitev do sedaj neznane bolezni na hmelju prvič uporabila metagenomska analiza s tehnologijo sekvenciranja naslednje generacije (NGS). V okviru teh aktivnosti smo določili nukleotidno zaporedje tako celokupni RNA kot tudi frakciji malih RNA. Analiza rezultatov je omogočila pridobitev specifičnih bioinformatskih veščin in osvojitev praktičnega dela z izbranimi programskimi paketi. Omenjena analiza je omogočila odkritje citrus bark cracking viroida (CBCVd) v obolenih rastlinah, kar je prvi tovrsten opis tega viroida na hmelju in hkrati prvi pojav izven območij dežel, kjer pridelujejo agrume. Analiza malih RNA je pokazala na možnost uporabe takih podatkov v rutinski diagnostiki, saj je pristop tudi cenovno zelo ugoden. Nova analiza detekcije je tako bistveno nadgradila do sedaj uveljavljene pristope odkrivanja povzročiteljev neznanih bolezni v smeri hitrejše, občutljivejše in celovitejše analize. Prav tako je NGS pristop omogočil pridobitev detajlnega transkriptoma hmelja s širšo uporabnostjo pri raziskavah odziva rastlin hmelja na okužbe z omenjenimi patogeni. Njegova analiza je potrdila določene transkripte, ki so različno izraženi med obolenimi rastlinami. Pri interakcijah viroid/virus-rastlina je znano, da rastlinski imunski odziv generira znatne količine viroidnih/virusnih malih RNA. Le-te bi lahko utišale preko RNA interferenčne poti rastlinske gene. V naši analizi, ki je temeljila na bioinformatskem pristopu določevanja tarč v transkriptomu hmelja in nadaljnem preverjanju z RT-qPCR smo pokazali, da se geni različno izražajo v primerjavi z brezviroidnimi rastlinami, medtem ko popolnega vzorca utišanja nismo zasledili. Epidemiološke študije projekta so dopolnile dosedanje dognanja o širjenju viroidov na hmelju ter omogočile razvoj priporočenih ukrepov preprečevanja tovrstnih bolezni. Z namenom diseminacije so v projektu pridobljena nukleotidna zaporedja na voljo drugim raziskovalnim skupinam preko javno dostopne podatkovne zbirke NCBI SRA.

ANG

Metagenomics analysis, applying next generation sequencing technology (NGS), was used for the first time in the study of an unknown hop disease. In the framework of these project activities, the sequence of total RNA, as well as a fraction of small RNAs, was determined. We gained specific bioinformatics data skills and practical experience by analysing the results with selected software packages. The analysis enabled us to identify citrus bark cracking viroid (CBCVd) in susceptible plants. This is the first known description of this viroid in hop and its first occurrence in areas not specific for citrus production. Analysis of small RNAs demonstrated the possibility of using such data and analytical approach for routine diagnostics, because it is

very affordable. Approaches for identifying pathogens causing unknown diseases in use to date have been immensely improved, with our new detection analysis focusing on faster, more sensitive and comprehensive analysis. NGS technology enabled us to obtain a detailed transcriptome of hop with broad applicability for research into hop response to infection with the above mentioned pathogen. Analysis of the transcriptome confirmed the existence of several transcripts differentially expressed among susceptible plants. The plant immune defence system generates substantial amounts of viroid/virus small RNAs on interaction of the viroid/virus with the plant. These small RNAs can silence plant genes by RNA interference mechanisms. In our analysis, based on the bioinformatics approaches of target identification in the hop transcriptome and verification with RT-qPCR, we were able to demonstrate that genes are differentially expressed in infected plants compared to those with no viroid infection, but we did not observe a full silencing pattern. Epidemiological studies during the course of our project have supplemented knowledge of how the viroid spreads in hop and helped to form a recommendation on how to manage and prevent such infections. Nucleotide sequences obtained during the course of the project are available to other research groups in the publicly accessible NCBI SRA data base.

## 9.2. Pomen za razvoj Slovenije<sup>10</sup>

SLO

Pridelovanje hmelja v Sloveniji je ena izmed pomembnih kmetijskih dejavnosti in ena redkih dejavnosti z izrazito izvozno usmeritvijo, saj slovenski hmeljarji izvozijo okoli 95% pridelka. V Savinjski dolini in drugod po Sloveniji pridelujejo svetovno znane visoko aromatične doma vzgojene hmeljne sorte (komercialno ime za značilne slovenske sorte hmelja je Super Styrian), ki rastejo in dajejo optimalen pridelek samo na tem področju zaradi specifičnih mikroklimatskih rastnih razmer. Pojav nove do sedaj še neidentificirane bolezni, ki se hitro širi neodvisno od sorte, resno ogroža domačo pridelavo hmelja in povzroča visoko gospodarsko škodo. V okviru projekta smo z uporabo novih raziskovalnih pristopov neposredno prispevali k identifikaciji povzročitelja ter proučili epidemiološke lastnosti na osnovi česar smo pridelovalcem postavili strategije preprečevanja širjenja. V okviru projekta smo razvili nove diagnostične metode, kar ima aplikativno vrednost pri vzgoji novih sort, zagotavljanju zdravega sadilnega materiala in nadzoru širjenja. Rezultati dela in razvoja ter vpeljave identifikacijskih tehnik in pristopov v okviru projekta imajo tudi širši pomen, saj so uporabni za reševanje podobnih problematik pojavljivanja novih bolezni na področju rastlinske pridelave in tudi širše. Poznavanje odziva transkriptoma rastline na viroidno okužbo nam omogoča poleg pridobivanja bazičnega znanja tudi uporabo le-teh pri strategijah obrambe pred viroidi. Rezultati raziskave vplivajo na pridobivanje novega znanja na Univerzi v Ljubljani in Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije ter posledično na vključevanje tega znanja v nove tehnologije v domačem prostoru ter tudi v širšem evropskem oziroma svetovnem prostoru. Novi tehnološki pristopi lahko odločilno vplivajo na manjšo obremenitev okolja, varnejšo hrano, manjšo porabo energije in s tem na kvalitetnejši trajnostni razvoj. Izvedba projekta je omogočala tudi opravljanje raziskave podiplomskemu in dodiplomskemu študentu, tako je imelo neposreden vpliv na pedagoški proces na Univerzi v Ljubljani. Pridobljeni nukleotidni podatki pa omogočajo neposredno uporabo v dodiplomskem učnem procesu.

ANG

Hop growing represents a significant part of Slovenian agricultural activities and is one of the most export oriented activities of Slovenian agriculture, with more than 95% of hop cones being exported to foreign countries. In the Savinja valley and other parts of Slovenia, world renowned, highly aromatic domestic hop varieties are being grown (varieties commercially known as Super Styrian). Because of the specific microclimate conditions, these varieties only give an optimal yield in this area. The occurrence of a new, previously unidentified hop disease, which spreads rapidly and independently among hop varieties, is a serious threat to domestic hop growing and a potential cause of major economic losses. Within the framework of our project, we contributed to pathogen identification by implementing new research approaches and set strategies for preventing the spread of the infection by studying the epidemiological properties of the pathogen. We developed new diagnostic methods with applicative value in breeding new varieties, ensuring healthy planting material and controlling the spread of the pathogen. The research results, and the development and introduction of new identification techniques, have significant importance, since they can be applied for resolving similar issues of

new disease occurrences, both in the field of plant growing and otherwise. Knowledge of the hop transcriptome response to viroid infection enables us, in addition to gaining basic knowledge, to use this knowledge in designing plant defence strategies. The results have an impact on obtaining new knowledge at the University of Ljubljana and the Slovenian Institute for Hop Research and Brewing and, consequently, on the introduction of the knowledge into new techniques in Slovenia and in the wider European and global environment. The new technologies can help reduce the environmental burden, contribute to food safety, reduce energy use and thus enable more sustainable development. The project was applied in the context of research of both a postgraduate and an undergraduate student, thus having a direct impact on the educational process at the University of Ljubljana. The acquired nucleotide sequences also enable direct use of the obtained knowledge and data in undergraduate teaching processes.

#### **10. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!**

**Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretnе rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni**

Cilj	
<b>F.01</b>	<b>Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin</b>
Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.02</b>	<b>Pridobitev novih znanstvenih spoznanj</b>
Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.03</b>	<b>Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja</b>
Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.04</b>	<b>Dvig tehnološke ravni</b>
Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.05</b>	<b>Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja</b>
Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.06</b>	<b>Razvoj novega izdelka</b>
Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.07</b>	<b>Izboljšanje obstoječega izdelka</b>
Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.08</b>	<b>Razvoj in izdelava prototipa</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.09</b>	<b>Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.10</b>	<b>Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.11</b>	<b>Razvoj nove storitve</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.12</b>	<b>Izboljšanje obstoječe storitve</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.13</b>	<b>Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.14</b>	<b>Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.15</b>	<b>Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.16</b>	<b>Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>

	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.17</b>	<b>Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.18</b>	<b>Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.19</b>	<b>Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.20</b>	<b>Ustanovitev novega podjetja ("spin off")</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.21</b>	<b>Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.22</b>	<b>Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.23</b>	<b>Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskev in metodoloških rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.24</b>	<b>Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskev in metodoloških rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>
<b>F.25</b>	<b>Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="button" value="▼"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="button" value="▼"/>

<b>F.26</b>	<b>Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev</b>
Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
Rezultat	▼
Uporaba rezultatov	▼
<b>F.27</b>	<b>Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine</b>
Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
Rezultat	▼
Uporaba rezultatov	▼
<b>F.28</b>	<b>Priprava/organizacija razstave</b>
Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
Rezultat	▼
Uporaba rezultatov	▼
<b>F.29</b>	<b>Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete</b>
Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
Rezultat	▼
Uporaba rezultatov	▼
<b>F.30</b>	<b>Strokovna ocena stanja</b>
Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
Rezultat	▼
Uporaba rezultatov	▼
<b>F.31</b>	<b>Razvoj standardov</b>
Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
Rezultat	▼
Uporaba rezultatov	▼
<b>F.32</b>	<b>Mednarodni patent</b>
Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
Rezultat	▼
Uporaba rezultatov	▼
<b>F.33</b>	<b>Patent v Sloveniji</b>
Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
Rezultat	▼
Uporaba rezultatov	▼
<b>F.34</b>	<b>Svetovalna dejavnost</b>
Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
Rezultat	▼
Uporaba rezultatov	▼
<b>F.35</b>	<b>Drugo</b>
Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE

Rezultat	<input type="text"/>
Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

**Komentar**

<input type="text"/>
----------------------

**11. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!****Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja**

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
<b>G.01</b>	<b>Razvoj visokošolskega izobraževanja</b>					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.02</b>	<b>Gospodarski razvoj</b>					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.03</b>	<b>Tehnološki razvoj</b>					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.04</b>	<b>Družbeni razvoj</b>					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.05.</b>	<b>Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.06.</b>	<b>Varovanje okolja in trajnostni razvoj</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.07</b>	<b>Razvoj družbene infrastrukture</b>					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.08.</b>	<b>Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.09.</b>	<b>Drugo:</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

**Komentar**

--

**12.Pomen raziskovanja za sofinancerje<sup>11</sup>**

	Sofinancer		
1.	Naziv		
	Naslov		
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:		EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja		Šifra
	1.		
	2.		
	3.		
	4.		
	5.		
Komentar			
Ocena			

**13.Izjemni dosežek v letu 2014<sup>12</sup>****13.1. Izjemni znanstveni dosežek**

Članek objavljen v Plant Pathology:  JAKŠE, Jernej, RADIŠEK, Sebastjan, POKORN, Tine, MATOUŠEK, Jaroslav, JAVORNIK, Branka. Deep-sequencing revealed a CBCVd viroid as a highly aggressive pathogen on hop. Plant Pathology, ISSN 0032-0862, 2014, vol. , v tisku, doi: 10.1111/ppa.12325. [COBISS.SI-ID 8056185]
---

DATOTEKI: DOSEZEK\_ZNANSTVENI.PPTX, DOSEZEK\_ZNANSTVENI.PDF

### 13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

Izdane smernice za pridelovalce v obliki zloženke:

RADIŠEK, Sebastjan, RAK CIZEJ, Magda, LESKOŠEK, Gregor, KOLENC, Uroš, JAKŠE, Jernej, JAVORNIK, Branka, PAVLIČ, Ema, KNAPIČ, Vlasta. Viroidna zakrnelost hmelja. Žalec: Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, 2013. 1 zgibanka, ilustr. [COBISS.SI-ID 7471481]

DATOTEKA: DOSEZEK\_DE.PDF

## C. IZJAVE

Podpisani izjavljjam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

### Podpisi:

zastopnik oz. pooblaščena oseba  
raziskovalne organizacije:

in

vodja raziskovalnega projekta:

Univerza v Ljubljani, Biotehniška  
fakulteta

Jernej Jakše

## ŽIG

Kraj in datum: Ljubljana 13.3.2015

### Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/52

<sup>1</sup> Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

<sup>2</sup> Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>3</sup> Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)

<sup>4</sup> V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>5</sup> Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'. [Nazaj](#)

<sup>6</sup> Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'.

Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.

Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)

<sup>7</sup> Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

<sup>8</sup> Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)

<sup>9</sup> Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>10</sup> Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>11</sup> Rubrike izpolnite / prepišite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisani obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

<sup>12</sup> Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2014 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2015 v1.00a  
88-16-16-23-C5-2F-74-77-A9-01-74-82-52-DB-8B-54-00-9F-B4-16

## **Priloga 1**

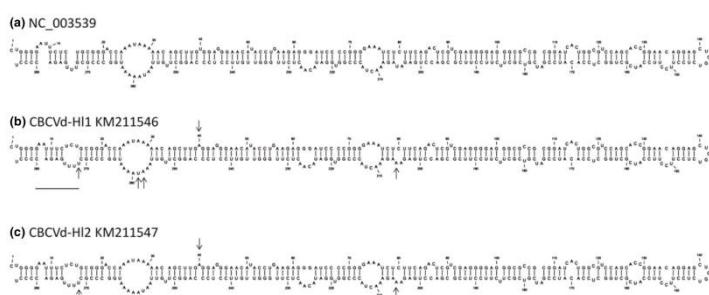
# BIOTEHNIKA

## Področje: 4.03 Rastlinska produkcija in predelava

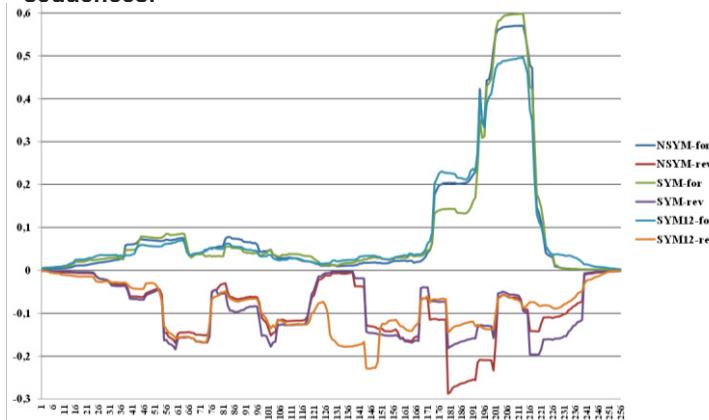
Dosežek: J. Jakse, S. Radisek, T. Pokorn, J. Matousek, B. Javorník.

**2015. Deep-sequencing revealed Citrus bark cracking viroid (CBCVd) as a highly aggressive pathogen on hop.**  
**Plant Pathology, DOI: 10.1111/ppa.12325.**

Newly emerging or re-emerging diseases are a constant and significant threat to agricultural production, so prompt and accurate identification of the causative agents is required for rapid and appropriate disease management. Classical methods of pathogen detection can be successfully supplemented by next-generation sequencing (NGS), whereby sequence analysis can help in the discovery of new or emerging diseases. In 2007, hop growers in Slovenia reported the appearance of severely stunted hop plants, a phenomenon that spread rapidly within hop gardens and among farms. Classical diagnostic methods were unable to detect a new pathogen; therefore, single step high-throughput parallel sequencing of total RNA and small RNAs from plants with and without symptoms was employed to identify a novel pathogen. The sequences were assembled de novo and also mapped to reference genomes, resulting in identification of a novel sequence of Citrus bark cracking viroid (CBCVd) in the stunted hop plants. Furthermore, the presence of this novel pathogen on hop was confirmed by RT-PCR analysis of 59 plants with symptoms from 15 hop gardens, representing the main outbreak locations identified by systematic disease monitoring, and small RNA Illumina sequencing of the bulked RNA sample. The high infectivity of the newly identified CBCVd was also confirmed by biotic inoculation of two hop cultivars, which developed aggressive symptoms in controlled conditions. This study shows the feasibility of deep sequencing for the identification of causative agents of new diseases in hop and other plants.

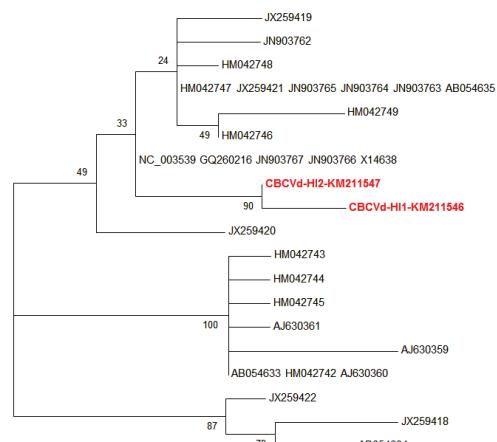


**Predicted secondary structure model for CBCVd sequences.**

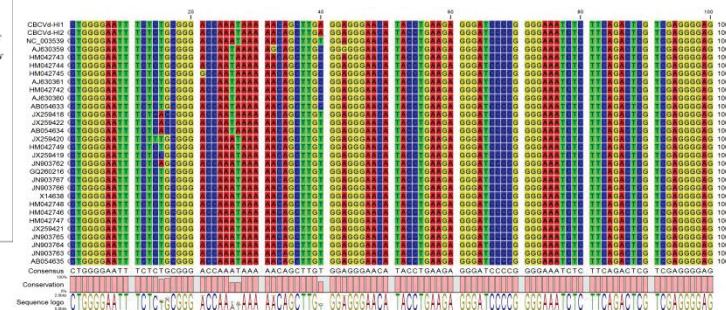


## Normalized mapping profiles of (+) and rev (-) small RNA reads for HLVd.

#### **Characteristic disease symptoms in hops.**



**Phylogenetic unrooted ML NJ tree of unique and complete (18 GeneBank and 2 hop variants) CBCVd sequences with displayed bootstrap values of 1000 replicates.**



## Muscle alignment of two hop variants of CBCVd.



## **Priloga 2**

odkrali leta 1940 na Japonskem, na ma, kjer se je z okuženim sadilnim ovročitelja hitro razširila in v obdobju deljih severne Japanske. Več kot 60 japonsko in bližnjo Južno Korejo, kamor dilnim materialom. Leta 2004 je bila (ZDA), v hmeljičnih zvezne države v avtonomni pokrajini Xinjiang. Leta viroid, ki so ga poimenovali Hop stunt . V Evropi je Slovenija prva država, ki je obolele rastline smo odkrili leta 2007 v njski dolini, v letu 2012 pa smo poleg identificirali še enega bolezenskega (CBCVd – viroid razpokanosti skorje ko nevaren viroid, ki je bil do sedaj Citrus, prve analize pa kažejo, da v povroča še bolj agresivna bolezenska zršjen je predvsem na območju držav na Kitajskem, Japonskem, Kubi, v Južni



Zaostajanje obolelih rastlin v rasti ter rumenjenje listja in vihanje listnih robov okuženih rastlin.



žkov zdrave (spodaj) ter obolele rastline



Zbita rast stranskih poganjkov in nepravilno razviti storžki okuženih rastlin.



Odvijanje in odklanjanje vrhov okuženih primarnih trt.

enja opazimo v začetku meseca junija. Urednjene, v začetku junija pa že lahko Z nadaljevanjem vegetacije se pojavi prihaja do izrazitega krajšanja in stranskih poganjkov. Ker se na trta prijem, se obolele rastline odklanjajo kužene rastline večinoma ne dosežejo teto tudi do 10 dni pred neokuženimi (polik mehurasti, pri nekaterih sortah sol. Storžki so izrazito majhni in lažji, z ležev, v primeru zelo prizadetih rastlin prizadene tudi koreniko, na kateri se lno odmrtje celotnega koreninskega

## GOSTITELJSKE RASTLINE

HSVd ima širok spekter gostiteljskih rastlin, med katerimi najdemo citrus, hruške, breskve, marelice, slive, mandljevec, žžulo, vinsko trto in kumare. Na večini od teh se ohranja v obliki latentnih okužb, ki ji težko opazimo, medtem ko izrazita bolezenska znamenja in gospodarsko škodo povzroča na hmelju, citrusih, breskvah, marelkah, slivah in kumarah. CBCVd prevladuje na rastlinah iz rodu *Citrus* in sorodnih rastlinah, na katerih povzroča pokanje lubja. Z umeđimi okužbami so dokazali, da lahko okužuje tudi nekatere ostale rastline kot so paradižnik, jajčevec, krizanteme in kumare. V Sloveniji smo naravne okužbe s CBCVd dokazali tudi v hmelju.

	Gostiteljske rastline	CBCVd
HSVd	hmelj ( <i>Humulus lupulus</i> ) hruška ( <i>Pyrus communis</i> ) breskva ( <i>Prunus persica</i> ) marelica ( <i>Prunus armeniaca</i> ) slika ( <i>Prunus domestica</i> ) mandljevec ( <i>Prunus dulcis</i> ) žžula ( <i>Ziziphus jujuba</i> ) vinska trta ( <i>Vitis vinifera</i> ) kumara ( <i>Cucumis sativus</i> ) citrusi ( <i>Citrus</i> spp.) plevelne vrste ( <i>Galinsoga</i> spp.)	hmelj ( <i>Humulus lupulus</i> ) citrusi ( <i>Citrus</i> spp.) kumkvat ( <i>Fortunella margarita</i> ) kumara ( <i>Cucumis sativus</i> ) paradižnik ( <i>Solanum lycopersicum</i> ) jajčevec ( <i>Solanum melongena</i> ) krizanteme ( <i>Chrysanthemum morifolium</i> )



Obolele rastline ne dosežejo višine žičnic in cvetijo tudi do 10 dni prej kot zdrave rastline.

## EPIDEMIOLOGIJA IN PREPREČEVANJE ŠIRJENJA

Glavni vir širjenja viroidne zakrelnosti hmelja predstavlja okužen sadilni material, zato je pomembno, da sajenje in obnavljanje nasadov temelji izključno na sadikah, ki izvirajo iz ustrezno pregledanih matičnih nasadov ali na sajenju certificiranih sadik kategorije A ( $CS_A$ ), ki so preverjeno pridelane brez virusov in viroidov. Glede na sorto je čas od okužbe do pojava prvih izrazitih bolezenskih znamenj viroidne zakrelnosti hmelja med 1-3 leti. V času inkubacijske dobe rastline ne razvijejo izrazitih bolezenskih znamenj, so pa infektivne in lahko povzročajo širjenje bolezni v nasadu. Bolesen se v hmeljičnih prenaša predvsem mehansko, in sicer z okuženim rastlinskim sokom, ki ostaja na strojih in orodju pri izvajanjju različnih agrotehničnih ukrepov. Širjenje je najintenzivnejše v času rezi in ostalih spomladanskih opravil, kot sta čiščenje in navijanje poganjkov, ko na rastlinah povzročamo največ poškodb. Zato je v tem času potrebno orodja (motike, hmeljarske nože,

rezalnike..) večkrat razkužiti, predvsem zaključku del v posameznem nasadu tudi v okviru posameznega okuženja bila bolezen najbolj izrazita. Do prenosu korenin okuženih in neokuženih predstavlja vir infekcij, je potreben sistemski čim prej odstraniti iz hmelja sosednje rastline (ali uničiti del nasada tudi te okužene, kljub neizraženim bolezni). Nas kljub rednim uničevanjem obdelavani presenetljivo pojav novih obolenih rastlin.



Napovedovanje bolezni v okuženem nasadu je izredno pomembno, ker izkorjeninjenje je uničenje posameznih delov hmelja v celoti.

Pomemben vir širjenja predstavljajo lahko HSVd in CBCVd preživita dokler iz okuženega hmeljišča ob vračanjih v hmeljičnih. Viroidna zakrelnost hmelja je v koreninskega sistema, kar pomeni, da (npr. branjanje) lažje odtrgajo in tako primeru uničenja okuženih delov na temeljito izorazi ostanke rastlin in izostanki hmelja v celoti popadejo in izvajanje ukrepov ureja Odločba o nesporazumu na širjenja viroidne zakrelnosti hmelja (L)



Intenzivnejše pokanje primarnih trt. in suha

hmelja - pred vstopom in po izstopu zvadbe razkuževanja je priporočljivo ki element, ki sproti razkužuje rezalne

enju in navijanju poganjkov, zato vanje motik in hmeljarskih nožev. Tako, da vsak delavec ob zaključku zpršilko poškropi svojo opremo.

reko ran, ki ji povzročajo osipalniki, ergalniki. Omenjeno mehanizacijo je om in ob zaključku del v okuženem

ori katerih je bila odkrita viroidna hmeljišča obravnavati ločeno ter obati opremo. V kolikor je mogoče, se jo zadnja.

*Okužen sadilni material, hmeljina in ostanki rastlin iz okuženih hmeljišč ter nerazkužena oprema predstavlja glavni vir širjenja viroidne zakrnelosti hmelja.*

bno sproti uničevati obolele rastline, časnimo širjenje okužbe. O pojavu i pristojne službe in po njihovih je med rastno dobo ter po obiranju njema uničenje okužene rastline in saki strani v isti vrsti. Rastline najprej herbicidom na osnovi aktivne snovi (de) koncentraciji. Po preteku najmanj s podzemnim delom s sežigom na išč.

10% okuženih rastlin) je potrebno ljišča ali njegovega dela se izvede po rastlin z neselektivnim herbicidom. Škropljenje izvedemo v pasovih, pri ov na površini 1 ha uporabimo 10 L. Po preteku najmanj 14 dni se rastline ničijo na samem mestu izkrčenja ali ki ga odredi fitosanitarni inšpektor. bno izvesti dvoletno premeno z nekatrimi so priporočene predvsem ozabimo na redno zatiranje plevelov.

č predstavlja enega od glavnih virov nasade. Tako je odvoz hmeljine ali lin nazaj v hmeljišča prepovedano. Uležati najmanj 2 meseca, preden poljedelske površine. V primeru ne- žigom uniči na primernem mestu ali jo določi pristojni inšpektor. Prevozi ni tako, da preprečimo raznašanje

- V času jesenske in spomladanske obdelave nasadov je potrebno ostanke trt in obreznine temeljito odstraniti iz nasada. Te lahko uničimo s sežigom ob hmeljišču ali na drugem primerenem mestu. Ostanke lahko tudi deponiramo na mestih kompostiranja hmeljine in z njimi ravnamo enako kot s hmeljino iz okuženih nasadov.

## OKUŽBO JE POREBNO POTRDITI Z LABORATORIJSKO ANALIZO

Podobna bolezenska znamenja na hmelju lahko povzroči virus repnjakovega mozaika (ArMV) in fiziološko obolenje, poimenovano »kržljavost hmelja«. Tudi slabša rast rastlin na nekaterih delih nasadov, rastline s poškodovanimi vrhovi zaradi toče ali vetra, fitotoksičnost herbicidov in pozne sistemske okužbe hmeljeve peronospore (*Pseudoperonospora humuli*) lahko povzročijo podobna znamenja, ki jih težko ločimo od obolelih rastlin. Zato je za potrditev okužbe potrebno opraviti laboratorijsko analizo, pri čemer uradno vzorec lahko izvede fitosanitarni inšpektor ali pooblaščen izvajalec službe za varstvo rastlin.



Rastline, obolele za viroidno zakrnelostjo hmelja, spomladi šibkeje, a pravočasno odženejo (še ne zaostajajo v rasti), pri čemer lahko prihaja tudi do blagega rumenjenja listov (levo). Rastline, ki spomladi izražajo fiziološka znamenja, odganjajo slabše in razvijejo »kržljave« poganjke (desno).

### Laboratorijske analize na virusu in viroide na hmelju opravlja:

Diagnostični laboratorij za varstvo rastlin; Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (Cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, tel.: 03 71 21 600, fax.: 03 71 21 620, tajništvo@ihps.si)

## KAJ STORITI, ČE OPATITE SUMLJIVE RASTLINE ?

Če ste opazili v hmeljišču ali v njegovih bližini znamenja viroidne zakrnelosti hmelja, takoj obvestite pristojnega fitosanitarnega inšpektorja ali fitosanitarnega preglednika zdravstvenega varstva rastlin na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije. Odvzeli bodo uradni vzorec in opravili laboratorijsko analizo. V primeru potrditve okužbe vam bodo glede na stanje okužbe ustrezno svetovali in pomagali z dodatnimi navodili ter pojasnili. Viroidi na hmelju lahko preživijo na rastlinskih ostankih v tleh le omejen čas, prav tako se širijo izključno z mehanskim prenosom, zato je možno to bolezen popolnoma izkoreniniti. Za dosego tega cilja je potrebno čim prej odkriti vsa okužena hmeljišča in v njih izvesti ustrezne ukrepe.

### Poklicite:

- (03) 71 21 600 (Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije)  
 (03) 425 27 70 (URSVHVRV, Inšpekcijska za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin, OU Celje)  
 (02) 238 00 00 (URSVHVRV, Inšpekcijska za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin, OU Maribor)  
 (01) 300 13 00 (Uprava Republike Slovenije za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin)



Primerjava storžkov obbolele (levo) in zdrave (desno) rastline sorte Celeia.



Žarišče obolelih rastlin, ki se po obsegu najhitreje širi v smeri obdelave nasada.



Viroidna zakrnelost je nevarna bolezen v rasti in razvoju hmelja. Zaradi širjenja je pozornost žarišča čim prej ukrepa, saj lahko do konca do popolnemu izgrevanja slovenskih hmeljišč.



**Izdaja:** Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, telefon: 03/ 71 21 600, fax: 03/71 21 620, e-pošta: tajništvo@ihps.si, http://www.ihps.si · **Zastopa:** Martina Zupančič, direktorica · **Besedilo:** S. Radišek, M. Rak Cizej, G. Leskošek, U. Kolenc, J. Jakše, B. Javornik, E. Pavlič Nikolić, V. Knapič · **Uredil:** S. Radišek · **Fotografije:** S. Radišek · **Oblikovanje, priprava in tisk:** Tiskarna Golc, Vrbje pri Žalcu · **Naklada:** 2000 izvodov · **Žalec, 2013**