



Viroses du houblon en Alsace

Gérard Cloquemin, Bernard Walter, Jean Deffinis, Michel Muller

► To cite this version:

Gérard Cloquemin, Bernard Walter, Jean Deffinis, Michel Muller. Viroses du houblon en Alsace. *Agronomie*, 1986, 6 (8), pp.767-772. <hal-00884935>

HAL Id: hal-00884935

<https://hal.science/hal-00884935v1>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

Viroses du houblon en Alsace

Gérard CLOQUEMIN & Bernard WALTER (*)

avec la collaboration technique de Jean DEFFINIS & Michel MULLER (**)

G.R.I.S.P. ⁽¹⁾

(*) I.N.R.A., Station de Pathologie végétale, 28, rue de Herrlisheim, F 68021 Colmar

(**) COPHOUDAL ⁽²⁾, 2, rue du Houblon, 67000 Strasbourg

RÉSUMÉ

Trois virus ont été décelés par la méthode sérologique ELISA sur houblon en Alsace : le « *Hop Mosaic Virus* » (HMV), le « *Prunus Necrotic Ringspot Virus* » (PNRSV), l'« *Arabid Mosaic Virus* » (AMV) dans respectivement 44, 13,8 et 12,2 p. 100 des cas. Les plantes infectées n'extériorisent pas de symptômes foliaires caractéristiques. L'incidence de ces virus sur les rendements en cônes séchés et en acide α est mise en évidence dans les houblonnières fortement contaminées.

Mots clés additionnels : *Hop Mosaic Virus*, *Prunus Necrotic Ringspot Virus*, *Arabid Mosaic Virus*, sérologie, ELISA, rendement, *Humulus lupulus*.

SUMMARY

Hop viruses in Alsace

Three damaging viruses were detected in hops in Alsace by the ELISA technique. Hop Mosaic Virus (HMV), prunus Necrotic Ringspot Virus (PNRSV) and Arabid Mosaic Virus (AMV) infected 44, 13.8 and 12.2 % of plants respectively. Infected plants did not show typical leaf symptoms. A reduction in the yield of dried cones and α -acid was obvious in highly contaminated hop gardens.

Additional key words : *Hop Mosaic Virus*, *prunus Necrotic Ringspot Virus*, *Arabid Mosaic Virus*, serology, ELISA, yield, *Humulus lupulus*.

I. INTRODUCTION

La culture du houblon (*Humulus lupulus* L.) est traditionnelle en Alsace, dans le Nord et en Bourgogne. Pour la fabrication de la bière, deux des principes actifs du houblon sont pris en considération par les brasseurs : les acides amers (acide α) et les huiles essentielles. En Alsace, certaines origines de houblon sont réputées pour leur valeur aromatique (huiles essentielles) et sont recherchées par les brasseries françaises et étrangères.

En 15 ans, les surfaces houblonnières ont diminué en Alsace de 50 p. 100 et la teneur en acide α est tombée pour la var. « Northern Brewer » de 11 à 7 p. 100 et pour la var. « Brewers Gold » de 7 à 5 p. 100.

Cette baisse pourrait être due à la présence de viroses. En effet ces maladies ont une action négative sur le rendement et la qualité des récoltes : végétation

affaiblie, perte de 30 à 70 p. 100 en poids sur la production de cônes, chute du taux d'acide α (SCHMIDT *et al.*, 1970). Mais il s'agit très fréquemment d'une action conjuguée de plusieurs virus qui sont rarement présents isolément dans la plante.

Le houblon peut héberger de nombreux virus dont les plus répandus appartiennent aux 3 groupes suivants :

— *Carlavirus* : virus de la mosaïque du houblon ou « Hop Mosaic Virus » (HMV), virus latent du houblon ou « Hop Latent Virus » (HLV), virus latent américain du houblon ou « American Hop Latent Virus » (AHLV) (ADAMS *et al.*, 1983). Ils sont transmis par pucerons (*Phorodon humuli* Schrank, *Myzus persicae* Sulzer, *Macrosiphum* spp.) selon le mode non persistant.

— *Ilarvirus* : virus des anneaux nécrotiques du prunier ou « Prunus Necrotic Ring Spot Virus » (PNRSV). Plusieurs sérotypes sont décrits : le sérotype « pommier », le sérotype « cerisier » et des sérotypes intermédiaires (BOCK, 1967 ; BARBARA *et al.*, 1978). Il est transmis par le pollen.

— *Nepovirus* : virus de la mosaïque de l'arabis ou « Arabid Mosaic Virus » (AMV) (BOCK, 1966). Il est

⁽¹⁾ G.R.I.S.P. : Groupement Régional d'Intérêts Scientifique et Phytosanitaire.

⁽²⁾ COPHOUDAL : Coopérative des Houblonnières d'Alsace.

transmis par le nématode *Xiphinema diversicaudatum* (VALDEZ *et al.*, 1974 ; THRESH & PITCHER, 1978).

Dans certains pays le houblon fait l'objet d'une sélection sanitaire vis-à-vis des principales viroses. Les techniques de thérapie et de culture de méristèmes sont employées (SCHMIDT & WÖBLING, 1983).

Des gains de rendement de 3 à 16 p. 100 et des augmentations de 9 à 16,2 p. 100 de la teneur en acide α ont été enregistrés à la suite de la plantation de houblons indemnes de viroses.

Le travail que nous menons sur l'ensemble des houblonniers alsaciens a 2 objectifs distincts :

— connaître l'état sanitaire des houblons et étudier la relation entre la présence de virus et les diminutions de rendements observées ;

— chercher, au sein des meilleures origines de houblons, des plantes saines en vue d'une multiplication.

Dans cet article sont présentés les résultats de notre prospection concernant 3 virus importants sur houblon (AMV, HMV et PNRSV) et ceux de l'application de la méthode immuno-enzymatique ELISA (THRESH *et al.*, 1977) à leur identification.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Matériel végétal

Les 2 variétés de houblon les plus cultivées en France sont les variétés anglaises « Northern Brewer » (NB) et « Brewers Gold » (BG), initialement riches en acide α . L'Alsace se caractérise par la présence d'une vieille population de houblons aromatiques : le « Strisselspalt » (SP). La sélection massale du SP menée par certains planteurs a été poursuivie par le clonage.

En 1984, 1 174 pieds ont été prélevés sur 8 cultivars de houblon, notés et soumis à l'analyse sérologique. Ces prélèvements ont été effectués dans 11 communes, chez 12 planteurs déterminant ainsi 33 zones dont 15 sont plantées en SP.

Pour une partie des échantillons, sur une même liane, nous avons recherché les virus à la fois dans de très jeunes feuilles (sommet) et dans des feuilles plus âgées (milieu de la plante).

B. Transmission mécanique et hétérogreffage

Nous avons limité notre recherche à 3 virus : AMV, HMV et PNRSV, écartant pour une 1^{re} approche les virus latents : HLV, très répandu, et AHLV, absent des variétés européennes mais détecté sur des variétés américaines introduites en Allemagne (EPPLER & SANDER, 1984) et en Grande-Bretagne (ADAMS *et al.*, 1983).

Des essais de transmission à des hôtes herbacés sont faits par inoculation mécanique (1 g/4 ml de tampon phosphate Sørensen pH 7,1). Dans le but de disposer également de plants de houblon infectés par les différents virus, des houblons sains, issus de semis, sont infectés, soit par inoculation mécanique, soit par la technique d'hétérogreffage *in vitro* (BASS & VUITTE-NEZ, 1979). Dans cette dernière méthode, des frag-

ments de tige de plantes herbacées contaminées (*Chenopodium quinoa*, *Vinca rosea*, *Nicotiana clevelandii*) sont greffés sur des tiges de jeunes houblons sains (fig. 1).



Figure 1

Hétérogreffage *in vitro* entre *Humulus lupulus* issu de semis et *Chenopodium quinoa* infecté par l'AMV.

In vitro heterografting between *Humulus lupulus* (from seed) and AMV-infected *Chenopodium quinoa*.

C. Sérologie

1. Les réactifs

La purification des immunoglobulines s'effectue selon la méthode au rivanol (HARDIE & VAN REGEN-MORTEL, 1977). Les IgG purifiées sont conservées à -20°C à une concentration de 1 mg/ml ($E_{1\text{cm}}^{0,1\text{ p. 100}} = 1,4$).

La phosphatase alcaline est couplée aux IgG en présence de glutaraldéhyde à 0,6 p. 100 (AVRAMEAS, 1969) et les conjugués sont conservés à 4°C .

2. Méthode ELISA

Les tests sont réalisés dans des plaques NUNC 96 F selon la méthode sandwich directe (CLARK & ADAMS, 1977). Les antigènes sont préparés en broyant 1 g de feuille congelée à l'aide d'un broyeur à cylindres hélicoïdaux (presse Pollähne) en présence de 5 ml de tam-

pon phosphate (PBS) pH 7,4 contenant 1 p. 100 de Tween 20 et 1 p. 100 d'albumine de sang de bœuf. Les extraits sont centrifugés pendant 10 mn à 1 500 g. La réaction est mesurée par lecture de la densité optique (D.O.) à 405 nm avec un lecteur TITERTEK Multiskan. Sont considérés comme contaminés les échantillons dont la D.O. est supérieure à 2 fois la D.O. du témoin constitué par un jus de houblon sain, la D.O. de référence étant ajustée sur une plaque vide.

3. Mesure de la quantité d'acide α

Les analyses sont effectuées par le laboratoire HOP VALOR de Bischwiller par la méthode E.B.C. (European Brewery Convention) analytica III.

III. RÉSULTATS

A. Symptômes sur houblon

Dans l'ensemble, très rares étaient les plantes présentant des symptômes foliaires. Nous avons observé, lors des prélèvements, quelques symptômes de mosaïque sur feuilles semblables à ceux généralement décrits pour le HMV (fig. 2). Aucune corrélation positive n'a



Figure 2

Symptômes de mosaïque sur feuilles de « Brewers Gold », comparables à ceux provoqués par le virus de la mosaïque du houblon (HMV).

Mosaic symptoms on variety 'Brewers Gold' resembling symptoms induced by hop mosaic virus (HMV).

pu être établie entre les symptômes et les résultats des analyses par la méthode ELISA.

B. Transmission

A partir des antigènes conservés sur chlorure de calcium nous avons inoculé une série de plantes herbacées. La réussite de la transmission a été vérifiée par le test ELISA (tabl. 1). Dans aucun cas l'inoculation mécanique sur *H. lupulus* n'a abouti, par contre la technique d'hétérogreffage a permis de transmettre l'AMV à partir de *C. quinoa*, le HMV à partir de *N. clevelandii*. Le PNRSV a pu être transmis à partir de *C. quinoa* mais non à partir de *V. rosea* (tabl. 2).

TABLEAU 1

Inoculations sur hôtes herbacés.

Inoculation of herbaceous test plants.

Anti-gènes	Plante hôte	Symptômes observés	Test ELISA
AMV	<i>Chenopodium amaranticolor</i>	éclaircissement des nervures puis mosaïque, nécrose apicale	+
	<i>Chenopodium quinoa</i>	—	+
	<i>Cucumis sativus</i>	lésions locales chlorotiques sur cotylédons, mosaïque sur feuilles	+
	<i>Humulus lupulus</i>	—	—
	<i>Nicotiana tabacum</i>	anneaux chlorotiques	+
	<i>Petunia hybrida</i>	marbrure	+
	<i>Phaseolus vulgaris</i>	nécrose apicale	+
HMV	<i>Chenopodium album</i>	—	—
	<i>Humulus lupulus</i>	—	—
	<i>Nicotiana clevelandii</i>	—	+
	<i>Plantago major</i>	—	—
	<i>Polygonum aviculare</i>	—	—
	<i>Stellaria media</i>	—	—
PNRSV	<i>Chenopodium quinoa</i>	plages chlorotiques, feuilles déformées	+
	<i>Cucumis sativus</i>	taches chlorotiques sur cotylédons, mosaïque sur feuilles, nécrose apicale	+
	<i>Cyamopsis tetragonoloba</i>	—	—
	<i>Humulus lupulus</i>	—	—
	<i>Momordica balsamina</i>	—	—
	<i>Vinca rosea</i>	—	+

TABLEAU 2

Hétérogreffes *Humulus lupulus*/hôte herbacé.

Heterografting *Humulus lupulus*/herbaceous test plants.

Hôte herbacé	Virus	Nombre hétérogreffes	Nombre de plantes viables	Pourcentage transmission
<i>Chenopodium quinoa</i>	AMV	28	17	100
<i>Vinca rosea</i>	PNRSV	9	1	0
<i>Chenopodium quinoa</i>	PNRSV	9	5	40
<i>Nicotiana clevelandii</i>	HMV	9	3	33

C. Application du test ELISA

1. Utilisation des réactifs

Les dilutions d'utilisation des réactifs sont déterminées par des essais préliminaires sur des jus de

houblon. Nous avons vérifié qu'aucune réaction avec des plantes saines n'était observée et qu'il n'existait pas de réactions avec les antigènes hétérologues.

2. Niveau de prélèvement

Les résultats des analyses effectuées sur des feuilles prélevées au sommet d'une liane (environ 2 m) et en son milieu concordent. Les écarts de D.O. observés n'ont jamais été de nature à induire le doute dans l'interprétation du test.

D. Bilan sanitaire

Comme le montrent les résultats des analyses effectuées par la méthode ELISA (tabl. 3), les 3 virus recherchés sont très répandus et 68 p. 100 des plantes

soumises à l'analyse sont infectées par l'un au moins de ces virus. L'AMV et le PNRSV se trouvent souvent associés au HMV omniprésent. La présence simultanée des 3 virus dans une même plante est rare : 3 p. 100 des plantes analysées pour le « BG » et 0,5 p. 100 pour le « SP ».

La répartition par houblonnière (tabl. 4) des virus recherchés montre que, dans une seule houblonnière (n° 11), l'ensemble des échantillons prélevés s'est révélé exempt des 3 virus ; il s'agit d'un clone de « SP » planté en 1981. L'AMV et le PNRSV n'ont pas été décelés dans les échantillons provenant de 2 localisations : Batzendorf (houblonnières 4, 5, 6) et Mittelschaeffolsheim (houblonnières 7, 8, 9).

La comparaison des rendements en poids de cônes

TABLEAU 3

Pourcentage de plants des 3 variétés « Brewers Gold », « Northern Brewer », « Strisselspalt » infectés par les virus AMV, HMV et PNRSV.
Percentage of AMV, HMV and PNRSV-infected hops of three varieties (Brewers Gold, Northern Brewer, Strisselspalt).

Variétés	Sain	AMV seul	HMV seul	PNRSV seul	AMV + HMV	AMV + PNRSV	HMV + PNRSV	AMV + HMV + PNRSV	Nombre de plantes
BG	23,5	9	31,5	6	15	0	12	3	104
NB	24	1,25	57	1,25	3,5	0	13	0	322
SP	64,5	8	16	7	1	1,5	1,5	0,5	520

TABLEAU 4

Détection des 3 virus AMV, HMV, PNRSV par la méthode ELISA dans les houblonnières en Alsace.
Serological detection of AMV, HMV and PNRSV in hop gardens.

Commune	Houblonnière	Année de plantation	Variétés	Nombre de pieds analysés	Nombre de pieds malades en pourcentage		
					AMV	HMV	PNRSV
Furdenheim	1	1981	SP	50	—	22	8
	2	1981	Perle	50	—	4	2
Kriegsheim	3	1973	SP	50	6	16	28
Batzendorf	4	1982	BG	22	—	100	—
	5	"	NB	12	—	75	—
Mittelschaeffolsheim	6	"	Perle	16	—	77	—
	7	1983	BG	10	—	100	—
	8	"	NB	20	—	95	—
	9	"	Perle	15	—	63	—
Zeinheim	10	1982	SP	30	7	53	3
	11	1981	SP	50	—	—	—
Duntzenheim	12	1970	SP	50	6	70	12
	13	1968	SP	50	38	2	10
Wittersheim	14	1977	SP	40	48	20	20
	15	1979	NB	100	9	73	6
Hohatzenheim	16	1968	BG	31	—	61	90
	17	"	NB	30	—	90	40
Obernai	18	1971	NB	30	—	20	27
	19	1975	BG	50	60	92	20
Schnersheim	20	"	NB	50	—	90	38
	21	1984	SP	30	—	13	10
Ingelheim	22	"	"	"	—	3	3
	23	"	"	"	7	—	—
Schnersheim	24	"	"	"	—	7	—
	25	"	"	"	7	—	3
Ingelheim	26	"	"	"	17	—	—
	27	"	BG	60	42	32	8
Schnersheim	28	"	BG	30	—	30	—
	29	1984	NB	50	12	44	2
Schnersheim	30	"	"	15	—	35	—
	31	1972	SP	4	75	—	—
Schnersheim	32	1984	NB	10	—	70	—
	33	1979	SP	16	—	75	6

TABLEAU 5

Comparaison des rendements (poids de cônes séchés et teneur en acides α) et des pourcentages de plantes virosées pour la variété « Strisselspalt ».

Comparison between cone yields, α -acid content and percentage of virus-infected plants for variety 'Strisselspalt'.

Houblonnière	Poids de cônes séchés (t/ha)	Pourcentage acide α	Indice I*	Pourcentage de plantes malades		
				AMV	HMV	PNRSV
11	0,77	6,48	4,99	0	0	0
13 et 14	0,72	5,67	4,08	42	10	14
3	0,66	4,23	2,79	6	16	28
12	0,50	4,86	2,43	6	70	12

*I = Poids de cônes \times teneur en acides.

séchés par ha et en teneur d'acide α avec les pourcentages de plants virosés dans 4 implantations différentes de la variété « SP » (tabl. 5), confirme que ces rendements sont les plus élevés pour la parcelle dans laquelle aucun des 3 virus recherchés n'a été détecté.

L'incidence calculé ($I = \text{poids de cônes séchés} \times \text{teneur en acide } \alpha$) est le plus bas pour la houblonnière n° 12 dont 70 p. 100 des plantes analysées sont infectées par le HMV (tabl. 4) et 78 p. 100 par l'un au moins des 3 virus.

IV. DISCUSSION ET CONCLUSION

La présence des virus AMV, HMV et PNRSV dans les houblons en Alsace ainsi que les relations établies entre leur présence et les rendements de la récolte confirment leur incidence sur les diminutions quantitatives et qualitatives de la production houblonnière.

L'évaluation précise de l'impact des virus au champ est difficile à chiffrer puisqu'il existe de nombreux facteurs pouvant influencer sur les composantes des rendements : accidents climatiques, âge de la houblonnière, nature du sol, méthodes culturales.

Dans nos prélèvements, 68 p. 100 des plantes sont infectées par au moins un des virus. Le HMV infecte 44 p. 100 des plantes testées (« NB » : 73,5, « BG » : 61,5 et « SP » : 19 p. 100) alors que les chiffres publiés dans d'autres pays sont : Grande-Bretagne, 90 p. 100 (ADAMS *et al.*, 1983), République Fédérale Allemande, 82 p. 100 (ANONYME, 1981) et Portugal, 80 p. 100 (DE VARENNES & DE SEQUEIRA, 1981).

Le houblon est une plante susceptible d'héberger de nombreux virus, souvent sans symptôme foliaire, ce qui rend nécessaire l'utilisation de méthodes de détection telles que les méthodes sérologiques. Les sérums anglais que nous avons utilisés concernent 3 des plus importants virus décrits jusqu'à présent sur houblon (AMV, HMV, PNRSV). Nous n'avons pas recherché : le Hop Latent Virus (HLV), très répandu mais sans incidence notoire sur les rendements et qui est sérologiquement apparenté au HMV (ADAMS *et al.*, 1983) ; le Cucumber Mosaic Virus (SCHMIDT & KARL, 1968), le Tobacco Ringspot Virus (SCHMIDT, 1967), rares sur houblon, ni le viroïde du Hop Stunt répandu au Japon (SASAKI & SHIKATA, 1977).

Certains virus présentent plusieurs sérotypes différents dont la distribution peut varier selon les régions.

Plusieurs souches sérologiquement distinctes de PNRSV ont été décrites (BOCK, 1967 ; BARBARA *et al.*, 1978 ; CASPER, 1983). Les plus répandus sur houblon sont les sérotypes « pommier » (ApMV) et des sérotypes intermédiaires entre l'ApMV et le PNRSV (= sérotype « cerisier »), le sérotype « cerisier » étant relié, mais faiblement, à l'ApMV. Dans 10 p. 100 de nos prélèvements, les souches « pommier » et « cerisier » ont été recherchées. Leur présence souvent simultanée nous ont conduits à n'utiliser que les réactifs du sérotype « cerisier ». Une étude plus approfondie des différents sérotypes, et de leur répartition, est en cours.

Dans la perspective d'une lutte ou d'une prophylaxie, la caractérisation des virus, par les gammes d'hôtes et leurs réactions sérologiques, est une étape préliminaire nécessaire. La connaissance des vecteurs et de la répartition de la maladie permettent, dans un second temps, d'échafauder des stratégies de lutte. En ce qui nous concerne, le HMV et ses vecteurs aphides, présents dans les houblonnières, font l'objet d'une protection phytosanitaire justifiée par les déprédations directes des pucerons. Pour l'AMV on ne connaît pas encore la nature et l'importance des populations de nématodes vecteurs en Alsace. Cette information nous permettra de juger le risque de dissémination et de justifier une désinfection des sols dans les houblonnières où l'on souhaite planter du matériel indemne de viroses (MC NAMARA & PITCHER, 1974).

Pour le PNRSV, le rôle des nématodes n'est pas clairement établi (FULTON, 1970) ; on sait par ailleurs que ce virus peut être transmis par le pollen chez des *Prunus* (MANDAHAR & GILL, 1984).

Pour son arôme, la variété traditionnelle alsacienne, « SP », bénéficie d'un regain d'intérêt de la part des brasseurs. Face à ce marché porteur et dans le but de reconverter de vieilles houblonnières, l'emploi de matériel indemne de viroses est souhaitable. La contamination de houblons sains par le PNRSV et par le HMV a été évaluée, 8 années après plantation, à 0,1 et 16,4 p. 100 respectivement pour la variété « Hüller Bitterer » (ANONYME, 1984).

L'obtention de plants sans virus par différentes techniques, est en cours d'étude au GRISP en collaboration étroite avec l'INRA à Colmar.

Reçu le 29 juillet 1985.
Accepté le 28 avril 1986.

REMERCIEMENTS

Ce travail a bénéficié du soutien financier de l'Association Nationale du Développement Agricole, dans le cadre du programme houblon de l'Association Générale des Producteurs de Houblon de France.

Nous remercions le Dr. ADAMS (East Malling) pour la fourniture des antisérums, ainsi que les agents de la COPHOUDAL, du Service Régional de la Production des Végétaux Alsace et de la Station de Pathologie végétale de l'I.N.R.A. Colmar pour leur collaboration.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adams A. N., Barbara D. J., Clark M. F., 1983. The occurrence and some properties of three carlaviruses infecting hop plants (*Humulus lupulus*) in England. *Acta Hortic.*, **130**, 243-248.
- Anonyme, 1981. *Bayerische Landesanstalt für Bodenkultur u. Pflanzenbau* - Sonder-nummer, 2 März 82, Jahresbericht 1981, p. 57.
- Anonyme, 1984. Hopfen - Versuchsergebnisse, Produktionshinweise. *Bayerische Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau, Hopfenforschung und Hopfenberatung*. Wolnzach/Hüll. Berichts jahr'83, p. 21.
- Avrameas S., 1969. Coupling of enzymes to proteins with glutaraldehyde. Use of the conjugates for the detection of antigens and antibodies. *Immunochemistry*, **6**, 43-52.
- Barbara D. J., Clark M. F., Thresh J. M., Casper R., 1978. Rapid detection and serotyping of Prunus necrotic ringspot virus in perennial crops by enzyme-linked immunosorbent assay. *Ann. Appl. Biol.*, **90**, 395-399.
- Bass P., Vuittenez A., 1979. Méthode d'inoculation virale par « hétérogreffage » entre plantes hôtes herbacées et ligneuses en culture aseptique *in vitro*. Application à la transmission des souches définies de népovirus de *Chenopodium quinoa* à la vigne *Vitis* spp. *Ann. Phytopathol.*, **11**, 565-567.
- Bock K. R., 1966. Arabis mosaic virus and Prunus necrotic ringspot viruses in hop (*Humulus lupulus* L.). *Ann. Appl. Biol.*, **57**, 131-140.
- Bock K. R., 1967. Strains of Prunus necrotic ringspot virus in hop (*Humulus lupulus* L.). *Ann. Appl. Biol.*, **59**, 437-446.
- Casper R., 1983. ELISA detection of ilarviruses in fruit trees by antisera having strong heterologous reactions. *Acta Hortic.*, **130**, 143.
- Clark M. F., Adams A. N., 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.*, **34**, 475-483.
- Eppler A., Sander E., 1984. A survey of German hops for the presence of American hop latent virus (AHLV). *Phytopathol. Z.*, **109**, 183-187.
- Fulton R. W., 1970. Prunus necrotic ringspot virus. *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses*, n° 5.
- Hardie G., Van Regenmortel M. H. V., 1977. Isolation of specific antibody under conditions of low ionic strength. *J. Immunol. Methods*, **15**, 305-314.
- Mandahar C. L., Gill P. S., 1984. The epidemiological role of pollen transmission of viruses. *Z. Pflanzenkr. Pflanzensch.*, **91**, 246-249.
- McNamara D. G., Pitcher R. S., 1974. The control of arabis mosaic virus in hops by soil fumigation and fallowing. *Agro Ecosystems*, **1**, 123-129.
- Sasaki M., Shikata E., 1977. On some properties of hop stunt disease agent, a viroid. *Proc. Jap. Acad.*, **53 B**, 109-112.
- Schmidt H. E., 1967. New results of hop virus research. *Proc. 6th Conf. Czech. Plant Virol.*, Olomouc, 47-53.
- Schmidt H. E., Borde K., Heinrich R., 1970. Untersuchungen zur Frage der wirtschaftlichen Bedeutung von Virose und virusähnlichen Erscheinungen des Hopfens (*Humulus lupulus* L.) im Gebiet der DDR. *Nachrichtenbl. Pflanzensch.*, **4**, 78-85.
- Schmidt H. E., Karl E., 1968. Untersuchungen über eine Scheckung am Japanischen Hopfen (*Humulus scandens* (Lour.) Merr.). *Phytopathol. Z.*, **62**, 272-278.
- Schmidt H. E., Wölbing H., 1983. Stand und Perspektive der Produktion von virusfreiem Hopfen. *Nachrichtenb. Pflanzensch.*, **37**, 1-4.
- Thresh J. M., Adams A. N., Barbara D. J., Clark M. F., 1977. The detection of three viruses of hop (*Humulus lupulus*) by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Ann. Appl. Biol.*, **87**, 57-65.
- Thresh J. M., Pitcher R. S., 1978. The spread of nettlehead and related virus diseases of hop, 291-298. In Scott P. R. & Bainbridge A. : "Plant disease epidemiology". Blackwell Sci. Publ.
- Valdez R. B., McNamara D. G., Ormerod P. J., Pitcher R. S., Thresh J. M., 1974. Transmission of the hop strain of arabis mosaic virus by *Xiphinema diversicaudatum*. *Ann. Appl. Biol.*, **76**, 113-122.
- De Varennes A., de Sequeira O. A., 1981. A tecnica ELISA ("enzyme-linked immunosorbent assay") na detecção de virus em plantas. Sua aplicação na cultura da videira (*Vitis vinifera* L.) e do lupulo (*Humulus lupulus* L.). *Rep. Congr. Port. Fitiatr. Fitofarm.*, 305-311.