

ZÁVĚREČNÁ ZPRÁVA

Z VALIDACE METOD DETEKCE NOVÉHO HOUBOVÉHO PATOGENU *VERTICILLIUM NONALFALFAE* PRO ÚČELNÉ ZAJIŠTĚNÍ BUDOUCÍ NÁRODNÍ PRODUKCE A VÝVOZU CHMELE



Zpracovatelé projektu:

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (ÚKZÚZ)

Obsah

1	Úvod	3
2	Metodika a rozsah.....	5
2.1	Rozsah a účel průzkumu.....	5
2.2	Metodika odběru a zpracování vzorků	5
2.2.1	Odběr rostlin	5
2.2.2	Odběr zeminy	5
2.2.3	Detekce a identifikace V. nonalfalae v rostlinných vzorcích.....	6
2.2.4	Detekce V. nonalfalae v půdních vzorcích.....	6
3	Výsledky	7
3.1	Výsledky laboratorního testování rostlinných vzorků.....	7
3.2	Výsledky laboratorního testování V. nonalfalae v půdních vzorcích	8
3.3	Validace metody testování V. nonalfalae v půdních vzorcích.....	9
3.4	Analýza možných řešení.....	9
4	ZÁVĚRY A DOPORUČENÍ	10
4.1	Souhrn výsledků	10
4.2	Prevence a doporučení.....	10
4.2.1	Prevence před zavlečením a šířením verticiliového vadnutí chmele.....	10
4.2.2	Doporučená opatření v podnicích s výskytem verticiliového vadnutí chmele	10
4.2.3	Doporučení pro MZe	12
4.3	Závěr	12
5	LITERÁRNÍ ZDROJE	13

1 ÚVOD

Chmel se v ČR pěstuje ve značném rozsahu na ploše téměř 5000 ha a jeho pěstování je zejména v Čechách, ale i na Moravě, významným odvětvím nejen z hlediska zemědělské produkce, ale také zaměstnanosti, údržby krajiny a agroturistiky. Největší plochu již tradičně zaujímá Žatecká chmelařská oblast, ve které se chmel pěstuje na 3 836,6 ha, což představuje 77,25 % výměry chmelnic v České republice. Úštěcká chmelařská oblast zaujímá 504,1 ha sklizňové plochy, která činí 10,15 % chmelnic. V Tršické chmelařské oblasti se pěstuje chmel na 625,6 ha, tj. 12,6 % ploch chmelnic v ČR.

Nedávná taxonomická revize rodu *Verticillium* rozdělila *Verticillium albo-atrum* sensu lato na tři různé druhy: *V. albo-atrum* sensu stricto, *V. nonalfalfae* a *V. alfalfae*. *Verticillium nonalfalfae* infikuje několik hostitelů včetně chmele, brambor, petúnie a špenátu. Mezi další hostitelské rostliny se řadí také dvouděložné plevely jako např. kokoška pastuší tobolka, lilek černý, merlík bílý, kopřiva žahavka, pampeliška lékařská, rdesno blešník či starček obecný. Z dřevin napadá též pajasan žláznatý. Výskyt patogenu je hlášen z Kanady, Kubu, Japonska, Německa, Velké Británie a Slovinska. Existují také zprávy o mírných infekcích verticiliového vadnutí chmele z Německa, Polska, Belgie, Francie, Slovinska a mimo Evropu z Nového Zélandu a USA (Oregon), způsobené buď méně virulentními kmeny *V. nonalfalfae* nebo *V. dahliae*. Na rozdíl od *V. nonalfalfae* však *Verticillium albo-atrum* sensu stricto napadá hlavně brambory a *Verticillium alfalfae* vojtěšku. Dalším patogenním druhem, který je běžný a rozšířený na mnoha bylinách a dřevinách, včetně chmele, ve většině mírných a subtropických oblastí, je *V. dahliae*.

Letální forma *V. nonalfalfae* způsobuje rychlé odumírání rostlin. Tento patogen byl příčinou ukončení pěstování chmele v jihovýchodní Anglii a způsobil totální ztrátu výnosů v Bavorsku. Také ve Slovinsku působí *V. nonalfalfae* odumírání rostlin chmele, vedoucímu k významným ztrátám na výnosu a k likvidaci chmelnic. V současné době se mírné a letální formy patogenu vyskytují ve Spojeném království a ve Slovinsku. Ve Slovinsku byla od roku 1974 u chmele známá mírná forma verticiliového vadnutí, v roce 1997 došlo k šíření letální formy, načež do roku 2013 zde bylo úředně nařízeno zničit 147 ha chmelnic. Přirozeně se *Verticillium nonalfalfae* šíří půdou (např. ulpělou na zemědělských strojích, na obuvi pracovníků, pohybem zvířete) a částmi napadených rostlin. Kontaminace půdy ve chmelnici vede k opakované infekci. Na delší vzdálenosti se patogen rozšiřuje infikovaným rozmnožovacím materiálem chmele.

Projev onemocnění závisí kromě virulence patogenu také na citlivosti kultivarů a ekologických faktorech. Mezi příznaky nemoci, které jsou známé u obou forem onemocnění, patří:

- a) žloutnutí, hnědnutí a vadnutí listů, které je iniciováno na bázi rostliny a pokračuje směrem nahoru. Změna barvy listů začíná mezi hlavními žilkami a následuje okrajová a intervenální nekróza. Okraje listů se stáčí nahoru a postižené listy velmi snadno opadávají.
- b) hnědé zbarvení cévních svazků, viditelné do 30–40 cm nad zemí. Rostliny zůstávají pevně ukotveny v půdě na rozdíl od rostlin napadených houbovým patogenem z rodu *Fusarium*.

Na území ČR se uvedené patogenní formy houby dlouho nevyskytovaly. Předpokládalo se, že to je dáno dlouholetým využíváním pouze domácích odrůd chmele, které se s uvedeným patogenním agens nesetkaly. Až v roce 2017 byl tento patogen poprvé zjištěn i v České republice. Příznaky výskytu *Verticillium nonalfalfae* byly pozorovány inspektory ÚKZÚZ v červenci 2017 na dvou chmelnicích o výměrách 2,65 ha a 2,54 ha v Olomouckém kraji, v okrese Přerov (k.ú. Lipník nad Bečvou a Osek nad Bečvou). Na každé chmelnici bylo napadeno odhadem 15–25 % rostlin. Vzdálenost napadených chmelnic byla asi 800 m. Obě plochy chmele byly v rámci eradikace zlikvidovány včetně chmelových konstrukcí, aby se zabránilo dalšímu šíření patogenu. I přes uplatněná prvotní mimořádná rostlinolékařská opatření eradikačního charakteru (v té době se ještě jednalo o karanténní škodlivý organismus) a následná preventivní doporučení byl v červenci roku 2021 zjištěn výskyt i v Čechách, konkrétně v Žatecké pěstební oblasti v okrese Louny.

Původce verticiliového vadnutí chmele, jednoho z nejzávažnějších onemocnění chmele, byl až do roku 2019 v Evropské unii karanténním škodlivým organismem. Avšak od nabytí účinnosti prováděcího nařízení Komise (EU) 2019/2072 se jedná „pouze“ o regulovaný nekaranténní škodlivý organismus pro rostliny chmele určené k pěstování, kromě osiva, s prahovou hodnotou 0 %. V současné době díky této skutečnosti neprobíhají žádná eradikační opatření tohoto patogenu. Nicméně pro výrobu rostlin chmele určených k pěstování, kromě osiva, jsou unijní legislativou, z důvodu zamezení šíření této choroby rozmnožovacím materiálem, stanovena preventivní fytosanitární opatření. Od r. 2020 není *V. nonalfalfae* v produkčních výsadbách chmele regulováno fytosanitárními předpisy EU.

Podrobnější informace o verticiliovém vadnutí chmele jsou k dispozici na stránkách [Rostlinolékařském portálu ÚKZÚZ](#).

2 METODIKA A ROZSAH

2.1 Rozsah a účel průzkumu

Na základě zjištěného výskytu patogenu *Verticillium nonalfalfae* na Žatecku v roce 2021, provedl ÚKZÚZ v roce 2022, za finanční podpory Národního akčního plánu pro bezpečné používání pesticidů, mimořádný průzkum rozšíření tohoto patogenu ve chmelnicích na Žatecku. Vzorky pro laboratorní testování byly odebrány ze 136 lokalit, odpovídající výměře 259 ha, a to v devíti katastrech, se zaměřením na oblast výskytu patogenu zjištěného v roce 2021. Účelem mimořádného průzkumu bylo zejména získání dat potřebných pro ověření fungování nové metodiky detekce patogenu ze vzorků zeminy, ve srovnání s „klasickou“ metodou detekce z rostlin.

2.2 Metodika odběru a zpracování vzorků

Z pohledu účelu odběru a navazujících detekčních metod byly odbírány jak vzorky rostlin, tak vzorky půdy. Rostlinné vzorky se odbíraly přednostně z příznakových rostlin chmele, popř. z náhodně vybraných rostlin u nepříznakových porostů. Půdní vzorky se odbíraly z míst ohnisek s potvrzenou infekcí v rostlinách. Následná identifikace druhů rodu *Verticillium* z rostlinných vzorků proběhla v laboratoři ÚKZÚZ pomocí vybraných diagnostických metod, po předchozí kultivaci a identifikaci patogenu na živném médiu PDA. U půdních vzorků byla využita metoda velkokapacitní extrakce DNA společně s TaqMan real-time PCR.

2.2.1 Odběr rostlin

Z každé chmelnice byly v době vegetace (červenec, srpen) odebrány minimálně 3 vzorky rostlinného materiálu. Pro odběr vzorků byly přednostně vybírány rostliny s viditelnými příznaky napadení *V. nonalfalfae*, u nepříznakových porostů pak byly rostliny vybírány náhodně. Před samotným odběrem vzorků byly všechny rostliny v chmelnici vizuálně prohlédnuty.

Dohromady bylo celkem odebráno 136 vzorků po 3 dílčích výhonech, přičemž každý výhon byl zpracován zvlášť, což ve výsledku činilo 408 vzorků. Výhony, o velikosti 10–15 cm, byly odbírány ze spodní části rostlin těsně nad zemí do výšky cca 30–40 cm, kde se v případě infekce nacházejí napadené cévní svazky. Pro laboratorní analýzu byly odebrané vzorky uzavřeny do plastového zip sáčku a do doby, než byly odeslány do laboratoře, byly zchlazeny v ledničce. Po každém odběru vzorku se veškeré použité pracovní nářadí a náčiní vydezinfikovalo 70% ethanolem. Při vstupu do chmelnice se vždy použily nové návleky a jednorázové ochranné rukavice.

2.2.2 Odběr zeminy

Pro účel zavedení a validace metody detekce *V. nonalfalfae* z půdních vzorků bylo odebráno 5 půdních vzorků z chmelnice, která je primárním ohniskem výskytu v Čechách a 5 vzorků z pozitivních chmelnic na Moravě. Rovněž byly pro účely validace metody odebrány různé vzorky půd z nezamořených lokalit.

Do plastových sáčků byla jako půdní vzorek přednostně odbírána zemina z blízkosti příznakových rostlin, a to v množství cca 0,5 kg. Každá osoba, která v chmelnici manipulovala s půdními vzorky, použila jednorázové návleky na obuv nebo si obuv po odběru vzorku

důkladně očistila od ulpělé zeminy, a následně ji společně s použitým pracovním nářadím vydezinfikovala 70% ethanolem.

2.2.3 Detekce a identifikace *V. nonalfalfae* v rostlinných vzorcích

S ohledem na skutečnost, že pro identifikaci patogenu na úrovni druhu je přímá mikroskopie nedostatečná, byla k detekci a identifikaci *V. nonalfalfae* v rostlinných vzorcích využita metoda sledování cévních svazků pod stereomikroskopem, kdy nejnápadnějším morfologicky identifikovaným znakem rodu *Verticillium* jsou pozorovatelné verticiliové konidiofory.

Pro kultivaci na živném médiu se použily části výhonu s napadenými cévními svazky. V případě, že nebyly pozorovány poškozené cévní svazky, použily se pro kultivaci části z báze výhonu. Izolace patogenu se provedla v laminárním boxu, kde se dezinfikované části pletiva rostlin rozstříhaly na 0,5–1 cm velké kousky a za pomoci sterilní pinzety přenesly na pevné živné médium PDA. Na jednu Petriho misku o průměru 9 cm se použilo cca 5–7 kousků pletiva rostlin. Inkubace proběhla ve tmě při teplotě 22 ± 2 °C. Během 3–5 dnů bylo možné při úspěšné izolaci patogenu pozorovat narůstající bílé nadýchané mycelium. Po přeočkování probíhala ve tmě inkubace při teplotě 22 ± 2 °C. Hodnocení růstových charakteristik bylo provedeno po 7–14 dnech, kdy dochází v důsledku tvorby klidových struktur ke ztmavnutí kultur. Petriho misky se prohlížely každý den a po několika dnech (dle rychlosti růstu patogenu, což je 2–4 dny) byla pozorována rostoucí kultura.

2.2.4 Detekce *V. nonalfalfae* v půdních vzorcích

Pro detekci *V. nonalfalfae* z půdních vzorků se využila metodika přímé detekce založená na kombinaci 2 metod – velkokapacitní extrakce DNA a TaqMan real-time PCR. Pro detekci patogenu ve vzorcích zeminy nebylo možné využít standardní metody, které jsou využitelné pro vzorky rostlinného materiálu, a to z důvodu obsahu velkého množství rozmanitých půdních organismů (bakterií, hub) ve vzorku, od nichž nelze hledaný patogen jednoduše izolovat tak, aby mohl být následně morfologicky identifikován. Možnost spolehlivé detekce patogenu v půdě také vyžadovalo zpracování dostatečně objemného vzorku. Laboratoř OdDŠOR ÚKZÚZ využívá pro velkokapacitní extrakci DNA z půdních vzorků automatickou míchačku barev zn. Merris, díky níž lze analyzovat větší objemy vzorků (metoda umožňuje pohodlné zpracování půdy o hmotnosti 50 g, zatímco standardní dostupné metody extrakce DNA z půdy jsou schopny zpracovat mnohonásobně menší množství, obvykle do 1 g). Vlastní extrakce DNA byla po odstranění proteinů a koncentrační fázi prováděna pomocí komerčního kitu zn. Promega vyvinutého pro vzorky, z nichž je DNA obtížně purifikovatelná. Princip purifikace DNA daným kitem je založen na využití paramagnetických částic, díky čemuž je účinnější než standardní extrakční metody kolonkového typu. Půdní vzorky obsahují velké množství huminových kyselin (vysokomolekulární organické sloučeniny obsažené v humusu, vznikající při rozkladu odumřelých rostlin vlivem mikroorganismů), které mají podobné fyzikálně-chemické vlastnosti jako DNA, díky čemuž není snadné je od sebe běžně používanými extrakčními metodami oddělit. Huminové kyseliny fungují navíc i jako inhibitory PCR reakce a jejich přítomnost v roztoku extrahované DNA znemožňuje molekulární diagnostiku vzorku. Real-time PCR detekční test zahrnoval test pro současnou detekci a identifikaci *V. nonalfalfae* a *V. dahliae* v multiplexním uspořádání, a samostatný test pro kontrolu správně provedené

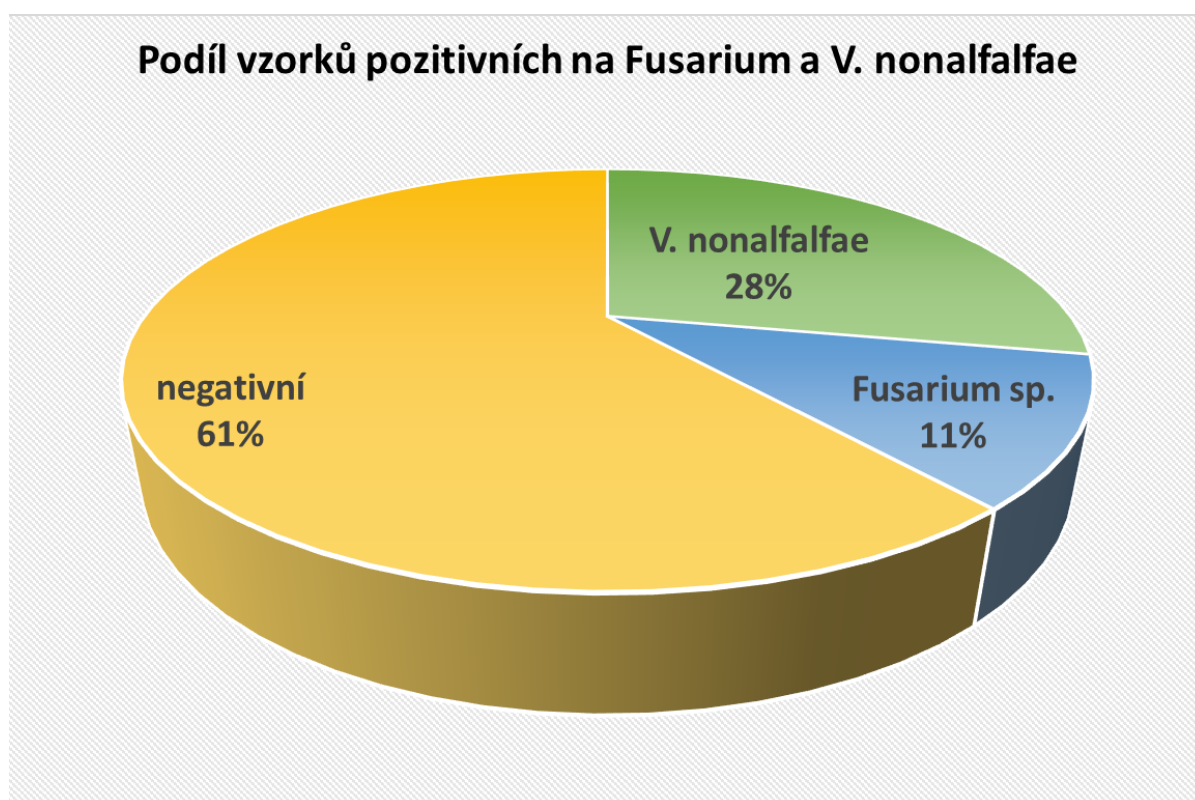
extrakce DNA a její dostatečné kvality a koncentrace (tzv. interní PCR kontrola, IPC) detekující eukaryotickou DNA, která by měla ve vzorku být vždy přítomna (gen pro syntézu 18S rRNA). Tato kontrola byla provedena ke každému testovanému vzorku a její výsledek (hodnota C_q a tvar amplifikační křivky) sloužil k indikaci kvality a kvantity extrahované DNA.

3 VÝSLEDKY

3.1 Výsledky laboratorního testování rostlinných vzorků

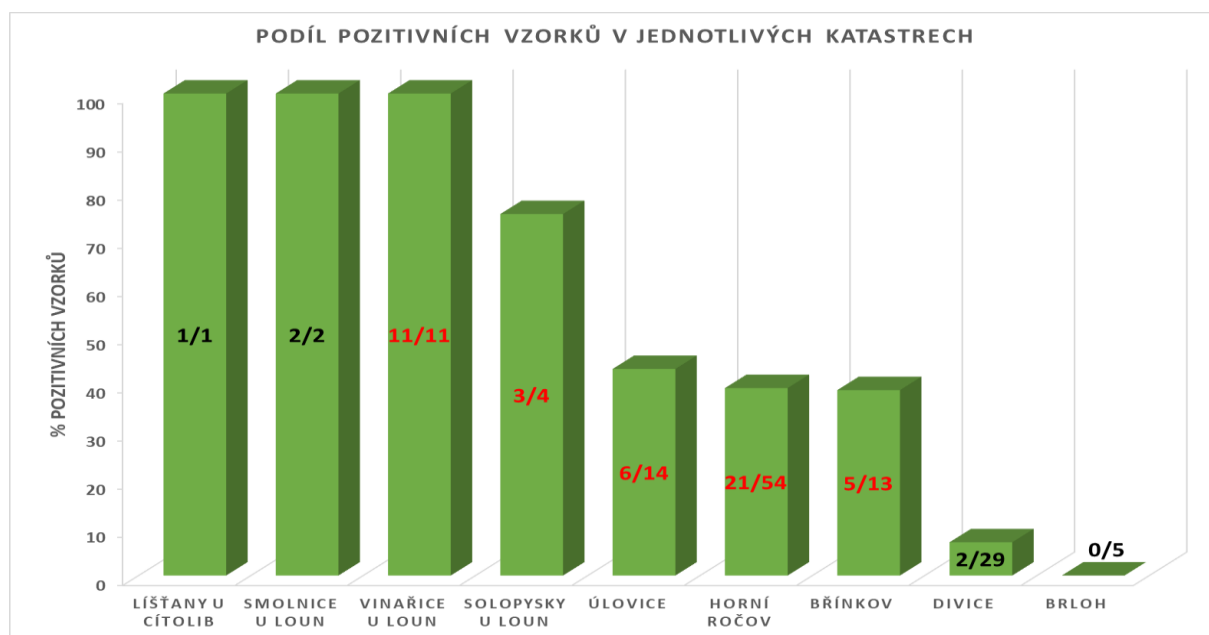
Výsledky byly vyhodnoceny pro 134 lokalit ze 136 vzorkovaných, přičemž **pozitivní na původce verticiliového vadnutí chmele bylo 37 lokalit, což odpovídá 28 % všech testovaných chmelnic**. Společně s původcem verticiliového vadnutí chmele byly testovány vzorky chmele i na další houbové patogeny: *Fusarium* spp. a *Sclerotinia sclerotivorum* (viz Graf 1). Podíl vzorků pozitivních na *Fusarium* spp. činil 11 %, přičemž v žádném vzorku nebyl potvrzen výskyt patogenního druhu *F. sambucinum*. *S. sclerotivorum* nebyla potvrzena v žádném z odebraných vzorků.

Graf 1 Podíl vzorků pozitivních na *V. nonalfalfae* a dalších původců onemocnění chmele



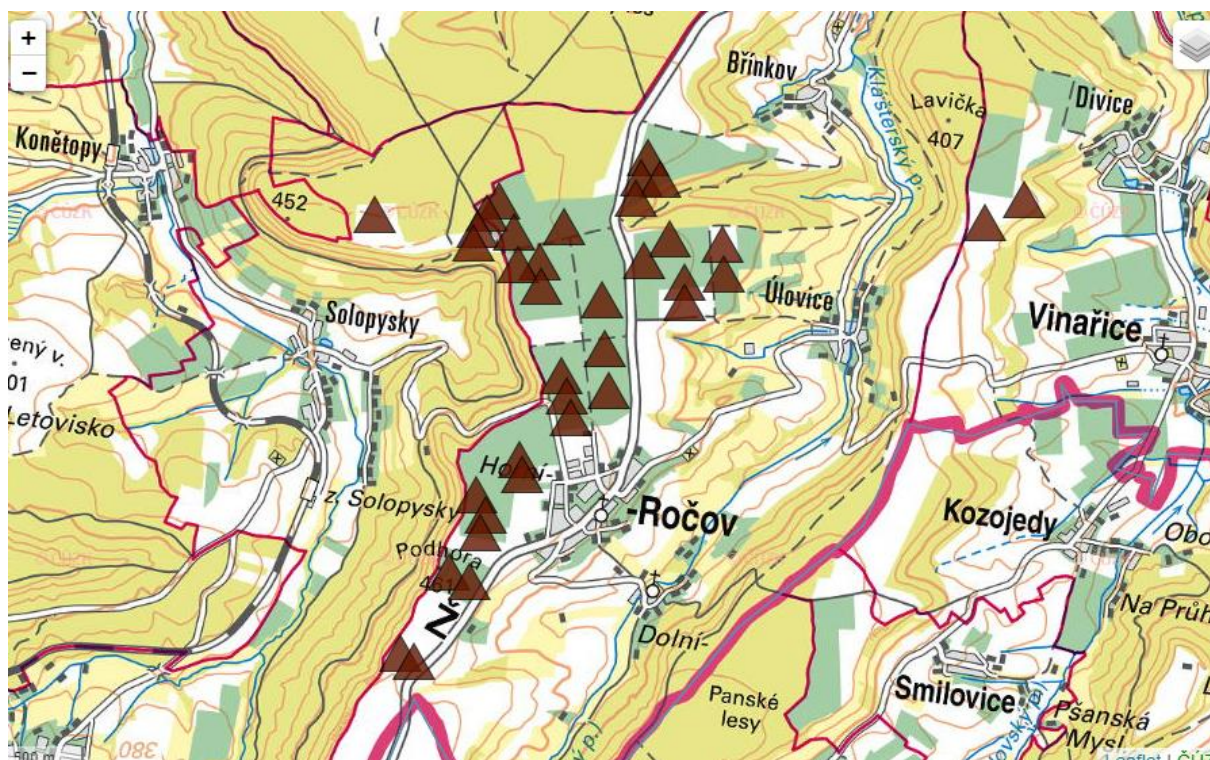
Výskyt původce verticiliového vadnutí se potvrdil v 8 z 9 testovaných katastrů (viz Mapa 1). 100 % napadení bylo potvrzeno ve 4 katastrech; vzhledem k množství odebraných vzorků lze průkazně označit za nejpromořenější pouze oblast katastru Vinařice u Loun, kde bylo všech 11 odebraných vzorků pozitivních na *V. nonalfalfae*. Vysoký podíl pozitivních vzorků: 43 %, 39 % a 38 % byl potvrzen v katastrech Úlovice, Horní Ročov a Břínkov. Minimálním podílem pozitivních vzorků nebo bez přítomnosti *V. nonalfalfae* byly katastry Divice a Brloh.

Graf 2. Podíl pozitivních vzorků v jednotlivých katastrech*



*) Čísla označují množství pozitivních vzorků z celkového počtu odebraných vzorků

Mapa 1 Lokalizace pozitivních vzorků na *V. nonalfalae* ve vzorkované oblasti



3.2 Výsledky laboratorního testování *V. nonalfalae* v půdních vzorcích

Metoda extrakce DNA byla převzata z velkokapacitní extrakce DNA z půdy pro detekci *Sclerotium cepivorum* dle Woodhall et al., 2012, která byla přizpůsobena a optimalizována.

Vstupní navážka materiálu byla pro snazší manipulovatelnost se vzorkem snížena z 250 g zeminy na 50 g. Aby bylo možné diagnostikovat co nejnížší množství patogenu v půdním vzorku, byl eluční objem pro maximalizaci výtěžku upraven z 200 µl na 50 µl. Testován byl také vliv zvýšení objemu paramagnetických částic pro purifikaci DNA na trojnásobek, avšak tato modifikace neměla pozitivní vliv na výtěžek DNA.

Real-time PCR detekční test byl převzat z dříve publikované metody určené pro detekci *V. nonalfalfae* a *V. dahliae* v rostlinách chmele a následně přizpůsoben k použití pro půdní vzorky, u nichž se předpokládá velmi nízká koncentrace patogenu (půdní patogeny obecně). Tato metoda je také uvedena v diagnostickém standardu EPPO PM (European and Mediterranean Plant Protection Organization) 7/78 (2) *Verticillium nonalfalfae* and *V. dahliae* jako doporučený test pro diagnostiku v rostlinném materiálu.

V rámci optimalizace real-time PCR testu byly porovnány různé koncentrace primerů a sond, reakční objemy 10 µl a 20 µl a dva různé mastermixy pro real-time PCR (Luna Universal Probe qPCR mastermix, New England Biolabs a TaqMan Universal PCR Master Mix, No amperase UNG, Applied Biosystems). Zatímco ani zvýšení koncentrace primerů a sond oproti doporučení výrobce, ani zvýšení reakčního objemu nemělo významný vliv na výkonnost testu, použití Luna mastermixu se projevilo jako klíčové pro kombinaci s optimalizovanou metodou extrakce DNA. Při použití TaqMan mastermixu byla pozorována úplná inhibice reakce u neředěných extraktů DNA, zatímco s Luna mastermixem byly amplifikovány i neředěné extrakty DNA. Pro lepší vizualizaci amplifikačních křivek byl s ohledem na očekávané vysoké hodnoty kvantifikačních cyklů (Cq) zvýšen počet reakčních cyklů na 50.

3.3 Validace metody testování *V. nonalfalfae* v půdních vzorcích

Každá metoda zaváděná v laboratoři musí být řádně validovaná před jejím použitím. Výkonnostními parametry charakterizující danou metodu jsou: senzitivita, specifická (inkluzivita a exkluzivita), selektivita, opakovatelnost, reprodukovatelnost, robustnost. Za validovanou je považována taková metoda, u níž byly stanoveny výkonnostní parametry nezbytné pro danou metodu s ohledem na její zamýšlené použití.

Tato metoda byla validována dle validačního schématu diagnostického standardu EPPO PM7/98(2) Specific requirements for laboratories preparing accreditation for a plant pest diagnostic activity, a to v duplexním uspořádání pro současnou detekci *V. nonalfalfae* a *V. dahliae* v jedné qPCR reakci a v separátní qPCR reakci pro interní PCR kontrolu. Výkonnostní parametry metody byly stanoveny s použitím uvedených konkrétních chemikálií, kitů a přístrojů (StepOnePlus real-time PCR system, Applied Biosystems).

Podrobný postup včetně validačních dat je součástí oficiální metodiky NRL, ÚKZÚZ k detekci a identifikaci *V. nonalfalfae* v podmínkách ČR. Metoda je do 30. 4. 2023 veřejně dostupná ve Věstníku Národní referenční laboratoře (NRL) na [stránkách ÚKZÚZ](#).

3.4 Analýza možných řešení

Na základě vyhodnocení analýzy možných řešení a postupů došel ÚKZÚZ k závěru, že stávající legislativa neumožňuje přijímat úřední opatření k řešení současného stavu výskytu patogenu v ČR. V úvahu připadá možnost úředního testování sadby chmele dovážené ze třetích zemí

nebo dodávané z jiných členských států EU. Toto opatření závisí ze strany ÚKZÚZ na zájmu ze strany chmelařů, a ÚKZÚZ jej bude konzultovat se zástupci chmelařů, resp. se Svazem pěstitelů chmele České republiky. V rámci úředního dohledu bude ÚKZÚZ dbát na důsledné dodržování požadavků stanovených pro rozmnožovací materiál chmele ve vztahu k tomuto regulovanému nekaranténnímu ŠO. Zároveň je nutná intenzivní a cílená osvěta pěstitelů chmele prováděná ÚKZÚZ ve spolupráci Chmelařským institutem, s. r. o. a Svazem pěstitelů chmele České republiky, týkající se zejména možností šíření patogenu a možností prevence před jeho zavlečením do jednotlivých podniků a rozšířením v nich. Další možností je šlechtění rezistentních odrůd, avšak vzhledem k dosavadním vlastnostem těchto odrůd, není o tyto odrůdy mezi pěstiteli velký zájem.

4 ZÁVĚRY A DOPORUČENÍ

4.1 Souhrn výsledků

Celkem bylo vyhodnoceno 134 lokalit, přičemž pozitivní na původce verticiliového vadnutí chmele bylo 37 lokalit, což odpovídá 28 %. Společně s původcem verticiliového vadnutí chmele byly potvrzeny výskyty i houbových patogenů rodu *Fusarium*, a to v podílu 11 %. *Sclerotinia sclerotivorum* nebyla potvrzena v žádném z testovaných vzorků.

Ze studie vyplynulo, že zamoření chmelařské oblasti na Žatecku původcem verticiliového vadnutí chmele se potvrdilo v 8 z 9 testovaných katastrů. 100% napadení bylo potvrzeno ve 4 katastrech.

Na základě vizuálních prohlídek, odebraných rostlinných a půdních vzorků a jejich laboratorní detekce a identifikace byla zpracována podrobná oficiální metodika NRL ÚKZÚZ pro detekci a identifikaci *V. nonalfalfae* v podmínkách ČR, která obsahuje přehled a popis symptomů, odběry vzorků, metodu detekce a identifikace patogenu z rostlinných vzorků a úspěšně vyvinutou, zavedenou a validovanou metodu včetně validačních dat pro přímou molekulární detekci z půdních vzorků. Metodika byla v rámci harmonizace diagnostických metod na úseku zdraví rostlin zveřejněna ve [Věstníku NRL ÚKZÚZ](#).

4.2 Prevence a doporučení

4.2.1 Prevence před zavlečením a šířením verticiliového vadnutí chmele

1. Testování pozemku před založením chmelnice na přítomnost *V. nonalfalfae* v půdě – využití nově validované metody detekce, vyvinuté laboratořemi ÚKZÚZ.
2. K zakládání chmelnic je třeba používat zdravý certifikovaný výsadbový materiál. V případě použití sadby chmele původem ze třetí země nebo i členské země EU doporučujeme nechat testovat na přítomnost *V. nonalfalfae*.
3. Zabránit zavlečení *V. nonalfalfae* do chmelnic s používanou zemědělskou technikou, což mj. znamená nepoužívat v podnicích, kde se *V. nonalfalfae* nevyskytuje, techniku, které mohla být používána na zamořených pozemcích, bez předchozího očištění a dezinfekce.

4.2.2 Doporučená opatření v podnicích s výskytem verticiliového vadnutí chmele

1. Zajistit pravidelnou kontrolu rostlin chmele ve všech obhospodařovaných chmelnicích.

2. V zamořených ohniscích výskytu *V. nonalfalfae* likvidovat místa výskytu, tzn. napadené rostliny chmele anebo skupiny rostlin, včetně rostlin v bezprostředním okolí v okruhu 3 m od těchto rostlin nebo od okrajů těchto ohnisek, a to jejich vykopáním a bezpečnou přepravou do místa likvidace, a to průběžně podle zjištění příznaků, každoročně v průběhu vegetace. Likvidaci lze, s ohledem na místní podmínky, provádět vhodným způsobem, při kterém nehrozí šíření patogenu, např.:
 - spálením na vhodném místě, a to způsobem, při kterém nedojde k porušení zákonných ustanovení o ochraně ovzduší
 - odvozem do spalovny
 - odvozem na řízenou skládku
 - kompostováním (při řízeném procesu kompostování vzniká teplota 70 °C)
 - případné nové výhony průběžně likvidovat neselektivními systemickými herbicidy.
3. Zajistit jednorázovou očistu a dezinfekci nářadí, mechanizace, kol traktorů, obuvi osob a dalšího vybavení použitého v průběhu likvidace rostlin chmele, pokud dojde ke kontaktu se zeminou nebo rostlinnými zbytky, a to vždy před jejich přemístěním ze zamořených pozemků na jiné místo, tzn. při každém opuštění zamořených pozemků, a to při použití účinných dezinfekčních prostředků (např. Virkon, Viroid apod.).
4. Zajistit pravidelnou očistu a dezinfekci nářadí, mechanizace, kol traktorů, bot a dalšího vybavení před jejich přemístěním ze zamořené chmelnice, a to při použití účinných dezinfekčních prostředků.
5. Zabránit vstupu na zamořené pozemky nepovolaným osobám (šíření zeminou na obuvy).
6. Neprodukovat v dotčeném podniku rozmnožovací materiál chmele a nepřemísťovat rozmnožovací materiál chmele z dotčeného podniku.
7. Nepřemísťovat půdu ze zamořených chmelnic na jiné pozemky určené k pěstování chmele.
8. Rozvrhnout pořadí prací tak (pokud je to proveditelné z hlediska termínu sklizně apod.), aby práce na zamořených pozemcích byly prováděny až jako poslední, a to po pracích na pozemcích bezprostředně s nimi sousedících (chmelnice, orná půda), a na těchto pozemcích pak po všech ostatních, méně rizikových pozemcích.
9. Provádět na zamořených pozemcích pravidelné potlačování hostitelských širokolistých plevelů: zejména heřmánku pravého, jitrocele kopinatého, kokošky pastuší tobolky, kopřivy žahavky, lilku černého, merlíku bílého, pampelišky lékařské, rdesna červice, rmenu rolního a starčeku obecného.
10. Nenavracet organickou hmoty do půdy prostřednictvím drcené chmeliny.
11. Uskladnit zbytky rostlin chmele, pocházející ze zamořených chmelnic, na místě vhodném ke skladování, odkud nehrozí možnost šíření *V. nonalfalfae*, a to po dobu nejméně 4 let od sklizně.
12. Zabránit přejezdům neočištěné a nedezinfikované techniky z dotčeného podniku do jiných farem zabývajících se pěstováním chmele.
13. Zamezit (nebo omezit na nezbytnou míru při maximálně zodpovědné očiště a dezinfekci) používání techniky jiných osob pěstujících chmel při práci ve chmelnicích dotčeného podniku.
14. Snížit intenzitu zpracování půdy, upravit dávky hnojiv (N a K), případně vyvápnit kyslejší pozemky.

15. V případech, kdy dojde k masivnímu výskytu *V. nonalfalfae* a k likvidaci 30 a více procent rostlin v zamořené chmelnici, zlikvidovat i zbývající rostliny chmele a pozemek zatravnit nebo osít obilninami, a to v průběhu nejméně následujících 4 ukončených vegetačních období; na takto zamořených pozemcích zvážit i případnou likvidaci chmelových konstrukcí za dodržení výše uvedených opatření k očištění a dezinfekci.

4.2.3 Doporučení pro MZe

1. Zvážit podporu výzkumného záměru nebo funkčního úkolu s cílem zmapovat současnou situaci, resp. aktuální rozšíření verticiliového vadnutí chmele v ČR jako podkladu pro rozhodnutí o případných opatřeních na zachování pěstování chmele na území ČR.
2. Zvážit úpravu nařízení vlády o stanovení podmínek poskytování přímých plateb, konkrétně § 18 odst. 2, písm. c) týkající se udržitelného hospodaření s organickou hmotou ve chmelnicích. Přestože tento bod není součástí pravidel podmíněnosti, nepřímo nabádá k šíření verticiliového vadnutí chmele. Toto opatření je velmi rizikové pro další šíření choroby, protože
 - a. dosud není jasná míra rozšíření této choroby v Žatecké, popřípadě v dalších chmelařských oblastech,
 - b. první příznaky na rostlinách se objevují až po 2–3 letech pěstování chmele po roce infikování pozemku, a
 - c. že produkce českého chmele je z 80 % tvořena jednou odrůdou.

4.3 Závěr

Z výsledků studie zaměřené na validaci metod detekce houbového patogenu *V. nonalfalfae* vyplývá, že v centru Žatecké chmelařské oblasti je masivní rozšíření tohoto patogenu téměř na 30 % chmelnic. Tuto situaci v nejvýznamnější chmelařské oblasti je potřebné bezodkladně řešit (viz výše), a to z důvodu vysokého rizika dalších úhynů celých porostů chmele v již zamořených oblastech, navýšení vstupů chemické ochrany při likvidaci hostitelských plevelných rostlin a rychlého rozšíření patogenu na další pěstební plochy.

Z tohoto důvodu je **nutné přesně vymezit zasažené území, resp. zjistit aktuální stav zamoření chmelnic v ČR, aby pěstitelé chmele věděli, v jakém rozsahu je třeba zavést efektivní opatření pro zamezení dalšího šíření patogenu.** *V. nonalfalfae* nespadá při zjištění v produkčních výsadbách do kategorie karanténních či regulovaných nekaranténních organismů, což neumožňuje zavedení mimořádných rostlinolékařských opatření v zasažených chmelnicích. Avšak jeho škodlivost a dopad na pěstování chmele je enormní, a to především díky jeho až několikaletému přežívání v půdě a snadnému šíření. Závažnost situace zvyšuje i skutečnost, že na 80 % českých chmelnic je pěstován žatecký poloraný červeňák, který náleží k citlivým odrůdám vůči *V. nonalfalfae*.

Protože přímá ochranná opatření pro potlačení šíření tohoto patogenu v zasažené chmelnici nejsou, je jediným možným způsobem ochrany zabránění jeho zavlečení do dosud nezamořených chmelnic, a to jak sadbou, tak mechanizací, půdou či vodou. Významnou podporu preventivních postupů představuje nově vyvinutá metodika ÚKZÚZ na detekci *Verticillia* z půdy. Nedílnou součástí řešení současné situace je provedení detailního průzkumu pěstebních ploch v jednotlivých chmelařských oblastech, jako výchozího stavu pro následné

nastavení ochranných, resp. preventivních opatření proti dalšímu šíření. Součástí řešení by měla být i finanční podpora zasažených pěstitelů, aby byli motivováni k dodržování opatření, která zabrání dalšímu šíření patogenu.

Na základě výše uvedeného je velmi žádoucí prověřit rozsah výskytu *V. nonalfalfae* v okolních chmelnicích již zjištěných výskytů v Žatecké pěstební oblasti, popř. ve všech oblastech pěstování chmele v ČR.

Všechny výsledky, včetně validace metod byly prezentovány odborné veřejnosti v roce 2023 v rámci Chmelařského kongresu a Semináře k ochraně chmele každoročně zajišťovaném Chmelařským institutem. Výsledky budou rovněž prezentovány na vědeckých konferencích a v odborných publikacích.

5 LITERÁRNÍ ZDROJE

Radišek S. 2018: Verticillium wilt of hops – management experiences from Slovenia. Seminář Chmelařského institutu s. r. o. k agrotechnice chmele v Žatci, konaný 28. 2.

Růžička T. 2018: První výskyt Verticillium nonalfalfae na území ČR. Seminář Chmelařského institutu s. r. o. zaměřený na ochranu chmele v roce 2018 v Žatci, konaný 6. 3.

Růžička T. 2018: Nové škodlivé organismy zjištěné ÚKZÚZ v roce 2016 a 2017. New Pests Detected or Monitored of ÚKZÚZ in 2016 and 2017. *Rostlinolékař* 1: 16–19.

Růžička T. 2018: Šíření karanténních a nových škodlivých organismů v ČR. XXI Rostlinolékařské dny Pardubice, konané 7. a 8. 11.

RL portál 2022: Verticiliové vadnutí chmele. [Škodlivé organismy \(ŠO\) > Choroby > verticiliové vadnutí chmele > Info | Rostlinolékařský portál \(eagri.cz\)](#)

Woodhall, J., Webb, K., Giltrap, P., Adams, I., Peters, J., Budge, G. and Boonham, N. (2012): A new large scale soil DNA extraction procedure and real-time PCR assay for the detection of *Sclerotium cepivorum* in soil. *European Journal of Plant Pathology*. 143. 467-473. 10.1007/s10658-012-0025-2.

PM 7/98 (5) (2021): Specific requirements for laboratories preparing accreditation for a plant pest diagnostic activity. *EPPO Bull*, 51: 468-498. <https://doi.org/10.1111/epp.12780>

PM 7/78 (2) (2020): *Verticillium nonalfalfae* and *V. dahliae*. *EPPO Bull*, 50: 462-476. <https://doi.org/10.1111/epp.12701>

Zpracovali: Jakub Beránek, Iveta Svobodová, Hana Orságová a Štěpánka Radová