Chmelařský institut s. r. o.

Metodika ochranných opatření proti šíření *Verticillium nonalfalfae* u chmele

Ing. Petr Svoboda, CSc.

Ing. Vladimír Nesvadba, Ph.D.

Certifikovaná metodika

Metodika ochranných opatření proti šíření *Verticillium nonalfalfae* u chmele

Certifikovaná metodika

Autor: **Ing. Petr Svoboda, CSc.**

Ing. Vladimír Nesvadba, Ph.D.

Posudek pracovníka státní správy: **Ing. Petr Kroutil, Ph.D.**

Ústřední a kontrolní ústav zemědělský (ÚKZÚZ)

Oddělení řízení fytosanitárních rizik

Posudek pracovníka z oboru: **Ing. Radek Gregor**

Družstvo Agrochmel Kněževes

Předseda

Metodika vznikla za finanční podpory programu EUREKA a je výstupem řešení projektu LTE2018: Tvorba genotypů chmele odolných k Verticilliu nonalfalfae vhodných pro pěstování v České republice i v rámci Evropské unie.

Vydavatel Petr Svoboda

ISBN 978-80-86836-44-7

Anotace:

V případě verticilliového vadnutí mohou být škody až 100 %, končící likvidací porostu. Správné a rychlé určení chorob a jejich původců je základem pro kvalitní rozhodování a provedení potřebných agro-technických a fytosanitárních opatření. Metodika je koncipována tak, aby byla technicky co nejjednodušší, a přitom umožňovala dosáhnout spolehlivé výsledky. Přímé použití chemické ochrany proti *Verticilliu nonalfalfae* není možné. Proto je velký důraz kladen na včasné zjištění infekce na základě vizuálních příznaků, laboratorní potvrzení infekce a zavedení příslušných fytosanitárních opatření. Důraz je kladen na desinfekci strojů a zařízení, likvidaci infikovaných částí chmele, plevelů a hostitelských rostlin ve chmelnicích a jejich okolí, na dodržování izolačních vzdáleností, správných agrotechnických zásad a používání ozdravené sadby. Při dodržování uvedených doporučení je možné škody u chmele vzniklé infekcí *Verticilliu nonalfalfae* minimalizovat. Vždy je nutná konzultace a spolupráce s ÚKZÚZ.

Metodika je určena pěstitelům chmele, terénním pracovníkům, pracovníkům diagnostických laboratoří, rostlinolékařům, vědeckým a vzdělávacím pracovištím v oblasti rostlinolékařství.

Obsah

1. Cíl metodiky

2. Dedikace

3. Verticilliové vadnutí chmele

3. 1. Historie výskytu choroby

3. 2. Morfologie původce choroby a význam pro etiologii

3. 3. Systematické zařazení

3. 4. Životní cyklus

3. 5. Hostitelské spektrum

3. 6. Výskyt patogenních kmenů *Verticillium albo-atrum* a *Verticillium dahliae* ve světě

3. 7. Výskyt v ČR

3. 8. Přenos houby a její kultivace

3. 9. Identifikace houby molekulárními technikami

3. 10. Poškození rostlin vlivem houby

3. 11. Biologická ochrana rostlin chmele před verticilliovým vadnutím

3. 12. Chemická ochrana rostlin chmele před verticilliovým vadnutím

4. Ochranná opatření proti šíření infekce *Verticillium nonalfalfae* u chmele

4. 1. Likvidace napadených rostlin chmele

4. 2. Desinfekce strojů a zařízení

4. 3. Kompostování zbytků chmele

4. 4. Agrotechnika a výživa infikovaných chmelnic

4. 5. Sanace infikované půdy

4. 6. Opětovné vysázení chmelnice

4. 7. Šlechtění chmele na odolnost k *Verticillium nonalfalfae*

5. Srovnání novosti postupů

6. Popis uplatnění metodiky

7. Ekonomické aspekty

7. 1. Náklady na zavedení uvedených postupů

7.2. Předpokládané ekonomické přínosy pro uživatele

8. Seznam použité literatury

9. Seznam publikací, které předcházely metodice

1. Cíl metodiky

Metodika je výsledkem projektu, který reaguje na výskyt tohoto patogena ve 2 chmelnicích v Olomouckém kraji v okrese Přerov, který byl zjištěn inspektory ÚKZÚZ v červenci 2017. Vzhledem k závažnosti situace a možnosti dalšího šíření bylo rozhodnuto napadenou plochu 5 ha chmele kompletně zlikvidovat (porost i chmelovou konstrukci), přičemž celková vzniklá škoda byla vyčíslena částkou 6 milionů Kč. Proto je nutné zahájit testování na výskyt *Verticillium nonalfalfae* a vytvořit nový šlechtitelský genofond chmele vykazující odolnost k této závažné chorobě. Současně řešit využití molekulárně-genetických metod pro identifikaci genu rezistence Ve1 ve stávajících odrůdách chmele a následném šlechtitelském materiálu a nalézt potencionální molekulárně-genetické markéry pro zefektivnění šlechtitelského procesu. Cílem projektu je získat odolné genotypy chmele pro pěstování v České republice, které budou využity pro pěstování v oblastech s výskytem této závažné choroby.

Patogen *V. nonalfalfae* je podle prováděcího nařízení Komise (EU) 2019/2072 regulovaným nekaranténním škodlivým organismem pro rostliny chmele (*Humulus lupulus* L.) určené k pěstování, kromě osiva, s prahovou hodnotou 0 %.

Dobrý zdravotní stav je základním předpokladem pro úspěšné pěstování a dosažení plánovaných ekonomických přínosů. Vzhledem k tomu, že proti *Verticillium nonalfalfae* není přímá ochrana možná, hlavním cílem této metodiky je představit vhodná opatření, která šíření tohoto patogena omezují, nebo eliminují. Jsou shrnuty poslední poznatky o tomto patogenu, výskyt, způsoby šíření a metody diagnostiky.

2. Dedikace

Projekt Eureka LTE2018 „Tvorba genotypů chmele odolných k *Verticillium nonalfalfae* vhodných pro pěstování v České republice i v rámci Evropské unie“ je řešen s podporou Evropské Unie. Informace o poskytovateli Ministerstvu školství mládeže a tělovýchovy jsou dostupné na webové adrese https://www.msmt.cz/vyzkum-a-vyvoj/verejne-souteze-a-vyzvy-ve-vavai/program-eureka-cz

3. Verticilliové vadnutí chmele

3. 1. Historie výskytu choroby

První záchyt byl zjištěn v Anglii v roce 1924 v Penshurstu (Kent) na odrůdách Fuggle a Tolhurst (Harris, 1927). Vážné příznaky se začaly objevovat po roce 1930 a po roce 1937. Choroba se začala rychle šířit v síti farem. Keyworth (1942) popsal, jak na jedné z farem byla v roce 1934 zachycena skupina 20 napadených rostlin, v roce 1938 to již bylo 2 000 napadených rostlin a o rok později bylo infikováno 26 chmelnic z celkových 31 chmelnic. V Německu bylo vadnutí chmele nalezeno v roce 1952 v Bavorsku. Silné poškození způsobené virulentním kmenem bylo zjištěno v 70. letech. Jak je tato choroba zákeřná a nebezpečná dokumentuje výskyt houby ve Slovinsku. První příznaky byly nalezeny v roce 1955 ve východní části Savinského údolí blízko města Celje. Do roku 1978 byly slabě virulentní kmeny nalezeny na odrůdě Aurora na celém území Slovinska. V roce 1997 byly silně virulentní kmeny nalezeny poprvé v západní části Savinského údolí. Mezi roky 1977–2001 byly virulentní kmeny nalezeny na různých odrůdách chmele v západní části Savinského údolí. Chronologie výskytu a rozšíření virulentních kmenů hadromykózy chmele ve Slovinsku je následující:

1997 první identifikace, krátce před sklizní byl virulentní kmen nalezen poprvé

1998 druhá identifikace, choroba se rozšířila v průměru 10 km od první lokality, 22 ha chmele bylo tento rok zlikvidováno

1999 třetí identifikace (S. Radišek), potvrdil prof. V. Zinkernagel, choroba se rozšířila v průměru 10 km od první lokality, dalších 11 ha chmele bylo zlikvidováno

2000 Choroba se rozšířila dále na 4 nové lokality v západní části Savinského údolí, dalších 33 ha chmele bylo zničeno a 25 ha bylo částečně poškozeno

2001 Choroba se rozšířila dále v západní části Savinského údolí, 1,7 ha bylo zlikvidováno a dalších 32 ha bylo poškozeno částečně

2002 Bylo zlikvidováno 16 ha chmelnic

2003 Byl zlikvidován 1 ha chmelnic

2004 Byly zlikvidovány 4 ha chmelnic

2005 Bylo zlikvidováno 2,5 ha chmelnic

2006 Bylo zlikvidováno 1,1 ha chmelnic

V období 1997–2006 bylo ve Slovinsku napadeno 55 chmelnic o ploše 220,6 hektarů, přičemž chmelnice na ploše 91 ha byly úplně zlikvidovány.

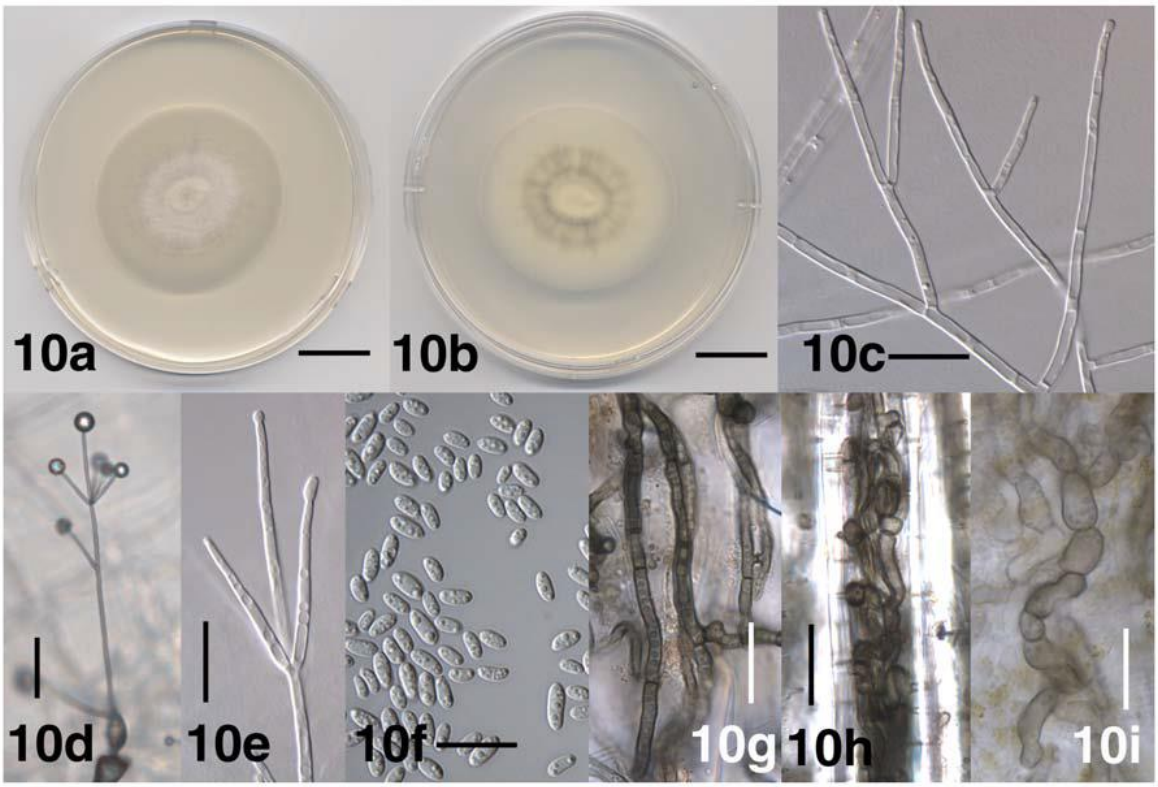
Zpočátku bylo cílem tuto chorobu postupně vymýtit a na infikovaná pole, kde bylo možné pěstovat jiné než hostitelské rostliny, bylo zavedeno čtyřleté období karantény. I přes intenzivní úřední monitorování, výcvikové kampaně, karanténu a hygienická opatření se nemoc dále šířila. Bylo zjištěno, že toto šíření souviselo s použitím infikovaných chmelových zbytků ve zdravých zahradách, kontaminovaných strojů a necertifikovaného sadbového materiálu. V důsledku toho byla v roce 2001 změněna opatření zaměřená na eliminaci lokálních ložisek a jednotlivých nemocných rostlin. Ve Slovinsku bylo v letech 1997 až 2013 zničeno celkem 147 ha infikovaných chmelových zahrad. Od roku 2014 je verticiliové vadnutí regulováno pouze v rámci certifikačního systému pro chmelovou sadbu.

V Holandsku, kde se chmel pěstuje ve velmi omezeném rozsahu, bylo zjištěno menší napadení a rovněž v Německu a v Polsku. *V. albo-atrum* a *V. dahliae*, které mohou být původci onemocnění, jsou půdou přenosné houby, které se přenáší rostlinným materiálem, rostlinnými zbytky, mechanizací i další lidskou činností. Škodí především na chmelu. V roce 1952 byla houba zjištěna v Bavorsku na chmelu, virulentní rasy byly zjištěny v sedmdesátých letech.

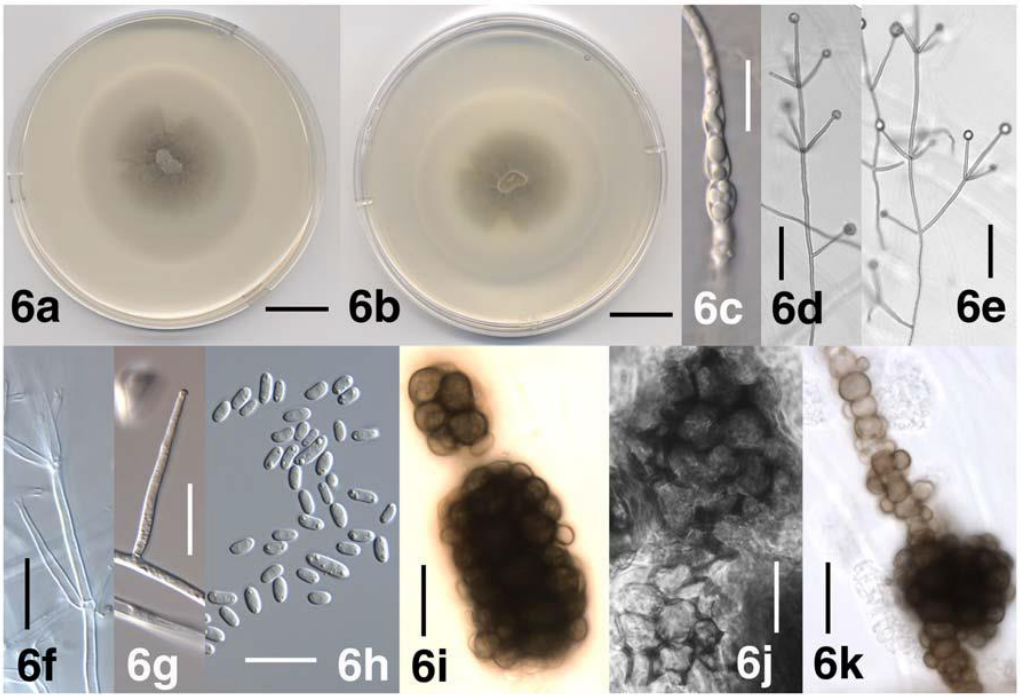
Webb a kol. (1972) použili gelovou elektroforézu k rozlišení celkového proteinu a specifických enzymů různých izolátů a jejich spojení s virulencí. Nenalezli žádný vztah k virulenci. Mohan a Ride (1984) studovali morfologické a biochemické charakteristiky tří sérotypů houby, ale rovněž nenalezli žádné spojitosti s virulencí. Zvětšení patogenity může být výsledkem genetické rekombinace mezi kmeny. Hastie (1962) poprvé demonstroval, že houba *Verticillium albo-atrum* může podléhat takové rekombinaci. První zpráva o verticilióze chmele ve Spolkové republice Německo byla oznámena Zattlerem (1960), který zjistil v roce 1956 napadení 55–60 ha, které se zvýšilo v roce 1959 na 120 ha. Také v bývalé NDR byla verticilióza zachycena na 19 ha a rovněž byla v této době zachycena v Polsku, Belgii, Jugoslávii a ve Francii. Na Novém Zélandu izoloval Christie (1956) houbu z chmele (Kalifornská odrůda), který byl pěstován po bramborách. Porovnal účinky izolátu s kmenem získaným z Anglie a zjistil, že izolát je více patogenní pro kalifornskou odrůdu a méně pro odrůdu Fuggle a liší se tak od anglického izolátu. V USA byl nalezen pouze izolát nepatogenní pro chmel (Zehsazian, 1968).

3. 2. Morfologie původce choroby a význam pro etiologii

U rodu *Verticillium* se vyskytují konidiofory větvené v přeslenech a větvičky se zužují a na konci jsou jednotlivé hyalinní konidie brzy odpadávající z konidioforu. Je to částečně saprofytický, převážně však parazitický rod. Působí tzv. hadromykózy – tj. ucpání vodivých drah dřevní části cévních svazků – tracheí, vedoucích vodu a rozpuštěné minerální soli. V důsledku napadení dochází k nekróze cévních svazků na bylinách i dřevinách. Někdy vytváří houba též sklerociové útvary, které jsou odpočinkovým stadiem houby. Houba roste na běžných živných médiích (bramborový a sladinový agar), často vytváří pučící konidie. Viz foto



Obrázek 1: Morfologické rysy *Verticillium nonalfalfae* (dříve V. albo-atrum). (a-b) kolonie na médiu, (c-d) konidiofory, e) apikální přeslen, f) konidie (g-i) klidové mycelium (Inderbitzin et al. 2011).



Obrázek 2: Morfologické rysy *Verticillium dahliae*. (a-b) kolonie na živném médiu (c) nafouknuté buňky přítomné v myceliu (d-e) konidiofory, f) phialide g) solitární phialid h) konidie (i-k) mikrosklerocia (Inderbitzin et al. 2011).

3. 3. Systematické zařazení

Rod *Verticillium* patří k houbám nedokonalým (nebo též nedokonale známým) – Fungi imperfecti (Deuteromycetes), ve starší systematice býval řazen do pomocného řádu Moniliales (Hyphomycetes) a pomocné čeledi Moniliaceae (Mucedinaceae).

Říše: houby (*Fungi*) **třída:** Ascomycete**s čeleď:** *Plectosphaerellaceae,* anamorfa *Hypocreales*

rod: Verticillium

EPPO kód: VERTNO (*V. albo-atrum*) společně s (*V. dahliae)*

Nově na základě molekulárních charakteristik jsou formy vyskytující se u chmele uváděny jako *Verticillium nonalfalfae*, (Inderbitzin et al. 2011).

3. 4. Životní cyklus

Verticillium nonalfalfae přežívá jako tmavé klidové mycelium v půdě a na zbytcích napadených rostlin na povrchu půdy. Mycelium nebo konidie mohou infikovat zdravé i poraněné kořeny. Po napadení kořenů přechází mycelium do cévních svazků a následně vyvolává vadnutí. U chmele je rychlost a závažnost onemocnění nepřímo úměrná teplotě

půdy. Verticilliové vadnutí chmelu je podporováno mírnou teplotou a potlačováno vysokými teplotami. Choroba může mít horší průběh v přítomnosti fytopatogenních háďátek a její rozvoj je podporován použitím velkých dávek dusíkatých hnojiv. Saprofytické přežívání houby v půdě má klesající tendenci, zvláště při nepřítomnosti dvouděložných plevelů, houba při zatravnění vymizí po 3–5 letech.

Sewell a Wilson (1974) zjistili, že běžná příprava půdy ve srovnání s vynecháním kultivace redukuje verticiliózu až o 28 %. Velký vliv na umělou infekci na poli má i hladina dusíkatého hnojení. Kamm (1970) zjistil, že verticilióza byla zvýrazněna vysokými dávkami dusíkatých hnojiv, ale byla potlačena bohatým obsahem humusu.

3. 5. Hostitelské spektrum

Hlavní hostitelskou rostlinou je chmel otáčivý (*Humulus lupulus **L.***). Dalšími hostitelskými rostlinami jsou např. bavlník (*Gossypium hirsutum*), brukev zelná (*Brassica oleracea*), fazol obecný (*Phaseolus vulgaris*), lilek brambor (*Solanum tuberosum*), lilek rajče (*Solanum lycopersicum*), locika setá (*Lactuca sativa*), miřík celer (*Apium graveolens*), okurka setá (*Cucumis sativus*), pelargonie *Pelargonium grandiflorum*, petúnie (*Petunia* spp.), řepa obecná (*Beta vulgaris*), špenát setý (*Spinacia oleracea*), tolice vojtěška (*Medicago sativa*). Mezi hostitele *V. nonalfalfae* patří také dvouděložné plevele, jako je heřmánek pravý (*Matricaria recutita*), jitrocel kopinatý (*Plantago lanceolata*), kokoška pastuší tobolka (*Capsella bursa-pastoris*), kopřiva žahavka (*Urtica urens*), lilek černý (*Solanum nigrum*), merlík bílý (*Chenopodium album*), pampeliška lékařská (*Taraxacum officinale*), rdesno blešník (*Polygonum persicaria*), rmen rolní (*Anthemis arvensis*) a starček obecný (*Senecio vulgaris*). K hostitelům se řadí také pajasan žláznatý (*Ailanthus altissima*).

Seznam hostitelských rostlin *V. nonalfalfae* se podle různých zdrojů může lišit vzhledem k nedávnému rozdělení patogenu *Verticillium albo-atrum* sensu lato na tři patogeny: *Verticillium albo-atrum* sensu stricto – napadá hlavně brambory, *Verticillium alfalfae* – napadá vojtěšku, *Verticillium nonalfalfae* – napadá chmel a jiné plodiny.

3. 6. Výskyt patogenních kmenů Verticillium albo-atrum a Verticillium dahliae ve světě

Tento patogen se vyskytuje v Severní Americe (Kanada, USA), Střední Americe (Kuba), Asii (Čína, Japonsko), Austrálii a Oceánii (Nový Zéland). V Evropě je znám ze zemí: Belgie,

Česká republika, Nizozemsko, Slovinsko, Spojené království. Uváděné země s výskytem *V. nonalfalfae* se mohou lišit dle zdroje vzhledem k tomu, že byl tento patogen donedávna zahrnován do druhu *Verticillium albo-atrum* (viz 3. 5. Hostitelské spektrum).

3. 7. Výskyt v ČR

Na území ČR se uvedené patogenní rasy 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 se poprvé tato choroba vyskytla v České republice. Příznaky výskytu *Verticillium nonalfalfae* byly pozorovány inspektory ÚKZÚZ v červenci 2017 na dvou chmelnicích o výměrách 2,65 a 2,54 ha, v Olomouckém kraji v okrese Přerov. Na každé chmelnici bylo napadeno odhadem 15-25 % rostlin. Jednalo se o odrůdy Kazbek a Sládek. Zdrojem infekce byly pravděpodobně sazenice chmele odrůdy Fuggle, které zde byly pěstovány na dvou chmelnicích od roku 2006, resp. 2007. V roce 2012 výsadby odrůdy Fuggle vymrzly a v roce 2013 byly místo nich vysazeny rostliny odrůdy Kazbek. Příznaky verticilliového vadnutí byly pozorovány pouze na jedné z těchto chmelnic, na druhé napadené chmelnici je pěstována odrůda Sládek od roku 2008, k přenosu patogenu na tuto chmelnici zřejmě došlo pomocí mechanizace. Vzdálenost napadených chmelnic byla asi 800 m. Obě plochy chmele byly v rámci eradikace zlikvidovány včetně chmelových konstrukcí, aby se zabránilo dalšímu šíření patogena, vzniklá škoda byla oceněna částkou 6 milionů Kč. Výsledky detekčního průzkumu v letech 2018–2019 neprokázaly šíření tohoto patogenu mimo zamořené ohnisko. V produkčních výsadbách chmelu není druh *Verticillium nonalfalfae* regulován fytosanitárními předpisy EU.

3. 8. Přenos houby a její kultivace

Keyworth (1942) popsal, že nemocná réva chmelová nebo listy a půda v okolí infikované rostliny jsou potenciálním zdrojem infekce a také popsal mnoho kultivačních polních zásahů, při nichž se může rozšířit houba. Sewell et al. (1966) sledoval vliv kompostování na infekčnost odpadního materiálu až 21 týdnů po sklizni. Zjistil, že 99% vzorků bylo neinfekčních, s výjimkou vzorků pocházejících z okolí napadené révy. Protože se chemická ochrana nejeví příliš využitelnou a houba může být velmi snadno přenášena půdou nebo rostlinnými zbytky, musí být hledány vhodné prostředky včetně hygieny a metody na minimalizování napadení. Keyworth (1942) si všiml, že se objevují dva různé typy napadení,

které popsal jako „kolísající“ a „ progresivní“. V prvém případě tloustnutí stonků nebylo narušeno, hnědnutí dřeva bylo často omezeno na střed a rostliny se symptomy se uzdravovaly.

Stupeň napadení se měnil od sezóny k sezóně, v některých letech bylo pozorováno zvýšení počtu rostlin jevících symptomy. U „progresivního“ napadení se symptomy objevily v sezoně dříve, někdy časném květnu, nemocné rostliny obvykle hynuly a infekce se rychle šířila chmelnicí. Studie různých izolátů (Isaac a Keyworth, 1948) ukázaly, že jsou rozdíly ve virulenci ve dvou zřejmých již uvedených formách. Talboys a Wilson (1954) popsali metodu rozlišující obě formy patogena jako oficiální testy pro Ministerstvo zemědělství a jeho experimentální stanice. Výsledky venkovních testů však ukázaly velký vliv meteorologických faktorů.

Clarkson a Heale (1985) zjistili, že by byly pro rozlišení obou forem třeba testy více než jednosezónní. Růstové komory nebyly ovlivněny počasím, ale nemohly přispět k rozlišení dvou patogenních forem. Bylo třeba rychlé metody pro rozlišení. Sewell a Wilson (1980) popsali šíření „progresivních“ kmenů hrabstvím Kent, což zničilo všechny komerční odrůdy chmele. Od roku 1965 již byly používány odolné odrůdy spojené s omezením dusíkatých hnojiv, nekultivováním půdy a vysokým standardem fytohygieny. Ale mezi roky 1968 a 1971 se objevila zvláště těžká forma u dříve rezistentních odrůd a testování patogenity ukázalo, že to bylo způsobeno dvěma virulentními kmeny V2 a V3. V pozdější práci, Sewell a Wilson (1984) uvádějí, že úroveň rezistence testovaných odrůd se udržela velmi dlouhou dobu na stejné úrovni k silně virulentním kmenům V2 a V3.

Houby *Verticillium albo-atrum* a *Verticillium dahliae* se přenášejí ve formě mycelia, konidií nebo sklerocií a to na povrchu zemědělské techniky, na které se zachytily zbytky půdy nebo části infikovaných rostlin. Houba se může přenášet jako součást tzv. mikroaeroplanktonu vzduchem. Pasivním přenašečem může být člověk nebo živočich. Hlavní způsob šíření by mohl být rostlinným materiálem určeným pro další pěstování a šlechtění. Ten proto musí být velmi důkladně vyšetřen na přítomnost houbových patogenů.

Houba byla zachycena na okurkách, bramborech, rajčatech, na mnoha plevelech např. na kokošce pastuší tobolce (*Capsella bursa pastoris*), na merlíku (*Chenopodium album*), na heřmánku (*Matricaria chamonilla*), na jitroceli větším (*Plantago maior*), na starčeku (*Senecio vulgaris*), na pampelišce (*Taraxacum officinale*). Hostiteli *Verticillium dahliae* jsou též vodní meloun, jahody, řepa, olivy, *Solanaceae,* různé okrasné rostliny a plevele.

Metody vyšetření jsou následující: rostliny je třeba nakrájet na jednotlivé části (kořen, krček, stonek, list), tyto části dezinfikovat v 5% chlornanu sodném (přípravek Savo) po dobu 5 minut, dále části rostlin umístit do sterilní destilované vody na dobu 5 minut a po okapání malé kousky pletiv klást na sterilní živné agary (bramborový nebo sladinový). Petriho misky se vzorky inkubovat při 23 °C po dobu 14 dní. Houby rodu *Verticillium* rostou jako bílé kolonie pomalu rostoucí. Jejich střed začíná asi po deseti dnech černat. Na mikroskopických preparátech jsou pozorovatelné „stromečkovité“ konidiofory, jejichž větve odškrcují jednotlivé konidie.

Podle EPPO se odebírají první vzorky mezi 1. – 15. červencem (z nich polovina napadená virulentním kmenem), druhé vzorky by měly být odebírány ve stejném rozsahu od 30. července do 15. srpna.

3. 9. Identifikace houby molekulárními technikami

Vzhledem k rozsahu hostitelů a patogenitě byly patogenní rody *Verticillium* podrobeny rozsáhlému molekulárnímu výzkumu, který vyústil v četné testy založené na PCR. Radišek (2004) vyvinul SCAR markery pro detekci patotypů – specifických izolátů Verticillium albo – atrum izolátů, pro odlišení patotypů PG1 a PG2, které bylo možné spolehlivě determinovat a odlišit. Radišek (2006) provedl molekulární analýzu genetické variability 55 izolátů *Verticillium albo atrum* pomocí metody AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) s 11 primery. Ukázalo se, že všechny letální kmeny jsou odlišné od mírných kmenů, mírné kmeny byly rozděleny do dvou skupin podle geografické příslušnosti. Na základě získaných údajů lze předpokládat možnost objevu nových virulentních izolátů v budoucnosti v dalších pěstitelských oblastech.

Spolehlivé PCR primery pro identifikaci druhů vyvinul Inderbitzin et al. (2013) a Maurer et al. (2013). Konvenční PCR vyvinutá Inderbitzinem a kol. (2013) vyžaduje izolaci DNA z čisté kultury hub. Metoda byla ověřena u všech uznávaných druhů *Verticillium*. Test PCR v reálném čase vyvinutý Maurerem a kol. 2013 byl shledán jako vysoce spolehlivý, specifický a citlivý a také méně časově náročný, protože krok izolace DNA se provádí přímo z chmelových šneků. Vedle identifikace druhů má vysoký význam u verticilliového vadnutí na chmelu identifikaci kmenů *V. nonalfalfae*. Jakše a kol. (2018) vyvinuli první diagnostické primery, které mohou odlišit letální od mírných kmenů bez ohledu na geografický původ. Před tím Radišek et al. (2004) vyvinuli primery, které jsou specifické pouze pro letální

patotyp *V. nonalfalfae* ze Slovinska. „Univerzální“ primery ITS1 a ITS4 (které amplifikují interní transkribované spacerové oblasti genu ribozomální RNA; rRNA ITS) (bílá et al., 1990) by měly být použity k testování kvality DNA extraktů. Pokud jsou navíc sekvenovány, mohou být amplikony z tohoto posledního páru primerů použity k identifikaci *V. nonalfalfae a V. dahliae.* Podrobně jsou uvedeny pracovní postupy pro jednotlivé metody v příloze č. 1.

3. 10. Poškození rostlin chmele vlivem houby

Rostliny chmele vlivem tzv. hadromykózy mají houbu na kořenech, což se projevuje hnilobným napadením kořenů. Kořeny hnědnou a černají. Houba se dostává z kořenů do cévních svazků, zejména do dřevní části, která vede vodu a rozpuštěné minerální látky (anorganické soli). Tyto svazky jsou tím více ucpávány, čím je napadení delší. Rostlinám chmele žloutnou listy, pouze kolem listové žilnatiny je zachován chlorofyl. Žloutnutí listů začíná odspodu od nejstarších listů a postupně začíná uvadat a usychat celá rostlina.

Obr. č. 3: Začátek usychání listů na infikované rostlině chmele v lokalitě Lipník, okres Přerov (Ing. P. Svoboda)

Obr. č. 4. Typické usychání listů na infikované rostlině chmele v lokalitě Lipník, okres Přerov (Ing. P. Svoboda)

Obr. 5: Odumírající infikovaná rostlina chmele, typicky odumřelé listy na zasychajících pazochách, lokalita Lipník, okres Přerov (Ing. P. Svoboda)

3. 11. Biologická ochrana rostlin chmele před verticiliovým vadnutím

K ochraně proti tracheomykóznímu onemocnění chmele nebo i pro jeho prevenci je možné využít biologických preparátů založených na antagonistických mikroorganismech.
Již Wilderspin a kol. (1983) zkoušeli elicitovat rezistenci chmele ošetřením kořenů konidiemi usmrcenými teplem nebo filtráty kultur. V jejich další práci (1984) bylo zjištěno, že přidání 1% chitinu do půdy chmelnice redukovalo propagule *Verticillium* o 10% po 48 dnech. Již Freeman (1980) doporučuje rychlou rekolonizaci houbou *Trichoderma* spp., která je antagonistická pro některé patogeny.

Radišek, Razinger (2019) studovali účinnost několika biofungicidů proti verticilliovému vadnutí. Testování bylo prováděno ve skleníku na rostlinách vysazených v květináčích, pomocí uměle infikovaných substrátů. Testování proti verticilliovému vadnutí odhalilo antagonistický účinek biofungicidů Serenade ASO, Cilus Plus a *Gliocladium catenulatum* – biofungicid Prestop. Výsledky ukázaly širokou škálu účinků použitých biofungicidů, účinnosti úzce závisela na konkrétním patogenu. Vyšší účinnost byla získána metodou namáčení kořenů než promočením po výsadbě, avšak celková účinnost byla relativně nízká (<50% snížení infikovaných rostlin), což je v praktických podmínkách pěstování vzhledem k vysokému potenciálu infekce půdy nepoužitelné. Na základě výsledků je doporučeno použití biofungicidů proti půdním patogenům jako preventivní opatření nebo dodatečné opatření v případě dezinsekce půdy, pro zlepšení zdraví půdy.

V ČR je možné proti verticiliovému vadnutí chmele použít přípravky na bázi leticinu a dále přípravek Polyversum na bází houby *Pythium oligandrum* M1. Návod k použití a další Informace uvádí Rostlinolékařský portál na webu ÚKZÚZ: http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/#rlp|so|choroby|detail:22fc60729806aa77bcc900a991848200|prip

3. 12. Chemická ochrana rostlin chmele před verticilliovým vadnutím

Verticiliové vadnutí je velmi obtížné regulovat, vzhledem k biologii, která byla představena. V důsledku toho v půdě může přetrvávat po dlouhou dobu, infikuje široké spektrum hostitelů a účinnost fungicidů je velmi nízká. Protože přípravky na bázi methylbromidu jsou zakázány, neexistují žádné účinné chemické ochranné prostředky (Duniway 2002). Kromě toho je chmel vytrvalá plodina, což situaci ještě více komplikuje. Solarizace, fumigace půdy a střídání plodin byly popsány jako často neúčinné (Fradin &

Thomma 2006). V ČR nejsou povoleny žádné fungicidy pro chemickou ochranu chmele proti *V. nonalfalfae* viz http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/#rlp|so|choroby|detail:22fc60729806aa77bcc900a991848200|prip

4. Ochranná opatření proti šíření infekce *Verticillium nonalfalfae* u chmele

Jednotlivá opatření můžeme rozdělit na preventivní s cílem co nejvíce zabránit vzniku infekce a dále na následná ochranná opatření vedoucí ke snížení výskytu infekce, zabránění dalšímu šíření a následně její eliminace.

4. 1. Likvidace napadených rostlin chmele a plevelů

Mezi nejdůležitější a nejúčinnější opatření v produkčních chmelnicích (v nich patogen není regulován fytosanitárními předpisy) infikovaných verticiliovým vadnutím, patří pravidelné odstraňování nemocných rostlin. Ty je nutné zničit vykopáním a zničením, a to spálením přímo v chmelnice (okraj) nebo na jiném vhodném místě. Kromě spálení rostlin (způsobem, kterým nedojde k porušení zákonných ustanovení o ochraně ovzduší) je možnost odvést rostliny do spalovny nebo na řízenou skládku. Při převozu rostlinných zbytků musí být zabráněno ztrátám rostlinného materiálu a zeminy, tzv. bezpečný odvoz. Přitom je velmi důležité, aby nedocházelo k uvolňování listů a jejich šíření po chmelnici, protože jsou zdrojem dalších infekcí.

V případě nálezu infikované rostliny a menších ložisek je doporučeno provést zničení infikované a současně i sousedních rostlin bez příznaků v okruhu 3 m od infikované rostliny. Doporučuje se posypat zničené ohnisko močovinou nebo dusíkatým vápnem v dávce 100 g/m2 a zapravit do půdy. Po 2-3 týdnech je možné místo po odstraněných rostlinách zatravnit, zabránit tak přesunu infikované půdy a růstu dvouděložných plevelů, které jsou hostiteli *V. nonalfalfae.* V případě každoročního nového výskytu infikovaných rostlin má smysl pravidelně ničit pouze nemocné rostliny, aby se zabránilo šíření infikovanými listy a zbytky rostlin.

Když infekce postupuje tolik, že pěstování již nemá další smysl, je potřeba všechny rostliny chmele zlikvidovat postřikem neselektivním systémovým herbicidem (např. přípravky na ochranu rostlin s účinnou látkou glyfosát, které jsou registrované pro zrušení porostu), v době po vyrašení, kdy výška rostlin dosáhne cca 1 - 1,5 m a po 3 až 4 týdnech od

ošetření vykopání těchto rostlin. Následně budou tyto rostliny spáleny na zamořených pozemcích (způsobem, kterým nedojde k porušení zákonných ustanovení o ochraně ovzduší), nebo odvezeny do spalovny nebo na řízenou skládku. Obdobným způsobem musejí být zlikvidovány také veškeré zbytky rostlin chmele, které případně zůstaly na zamořených pozemcích z předcházejícího vegetačního období. V případě, že rostliny chmele na zamořených pozemcích po ošetření znovu obrazí, je nutné je před vykopáním opakovaně herbicidně ošetřit a zlikvidovat obdobným způsobem.

Po úplném zničení rostlin je potřeba jejich zbytky vyorat a vyvláčet a spálit vedle chmelnice nebo odvést do spalovny nebo na řízenou skládku.

Neméně důležité je také potlačování všech širokolistých plevelů ve chmelnici, které slouží jako hostitelské rostliny pro patogena a umožňují jeho přežívání a další šíření. Jedná se zejména: rmen rolní (*Anthemis arvensis*), kokoška pastuší tobolka (*Capsela bursa-pastoris*), merlík bílý (*Chenopodium album*), heřmánek pravý (*Matricaria chamomilla*), jitrocel kopinatý (*Plantago lanceolata*), rdesno červivec (*Polygonum persicaria*), starček obecný (*Senecio vulgaris*), lilek černý (*Solanum nigrum*), pampeliška lékařská (*Taraxacum officinale*) a kopřiva žahavka (*Urtica urens*).

V případě vydání MRO pro první výskyt *V. nonalfalfae* v ČR bylo nařízeno následující opatření: Likvidace dřevěných částí konstrukcí chmelnic jejich podrcením, případně spálení dřevěných částí na zamořených pozemcích (způsobem, kterým nedojde k porušení zákonných ustanovení o ochraně ovzduší) nebo spálením ve spalovně. Odvoz ostatních nedřevěných (kovových) částí konstrukcí chmelnic do provozovny určené ke sběru a výkupu odpadu. V průběhu likvidace konstrukcí chmelnic je třeba zajistit v případě manipulace s konstrukcemi nebo jejich částmi mimo zamořené pozemky dodržení podmínek bezpečného odvozu.

4. 2. Dezinfekce strojů a zařízení

Pro napadené chmelnice platí zákaz vstupu nepovolaným osobám a je nezbytná opakovaná očista a dezinfekce nářadí, mechanizace, kol traktorů, obuvi osob a dalšího vybavení použitého v průběhu likvidace rostlin chmele, pokud dojde ke kontaktu se zeminou nebo rostlinnými zbytky, tj. vždy před jejich přemístěním ze zamořených pozemků na jiné místo a při každém opuštění zamořených pozemků. Desinfekce je nezbytným hygienickým opatřením při napadení chmele verticiliovým vadnutím, které účinně zabraňuje jeho dalšímu

šíření Pro dezinfekci je na trhu mnoho přípravků, které jsou dostupné v zemědělství, mezi doporučené patří například Virocid – 0,25-0,5%, Izosan – 0,02% nebo Vircon S v 0,5 (roztok)-1% (postřik) a Savo 5% koncentraci. Je nesmírně důležité používané nářadí důkladně vydezinfikovat před přesunem z jedné chmelnice na druhou. Doporučuje se také u infikovaných chmelnic, která mají větší výměru, provádět dezinfekci opakovaně po dokončení ošetření části chmelnice např. jedné poloviny nebo čtvrtiny. Použité vybavení, jako jsou ořezávače chmele, brány, kola traktoru a další části, které přicházejí do styku s půdou, je nutné očistit od zbytků půdy a poté se ošetřit připraveným dezinfekčním prostředkem. Za tímto účelem je vhodné umístit lahve s desinfekčním roztokem a rozprašovačem v kabině traktoru.

4. 3. Kompostování infikovaného chmele

Protože verticilliové vadnutí se šíří hlavně zbytky rostlin, je zapotřebí chmel z infikovaných chmelnic tepelně zpracovat na vhodném místě nebo skládce Radišek (2018). Mechanicky rozřezané zbytky chmele se kompostují, při rozkladu se zbytky rostlin zahřívají na teplotu vyšší než 70 °C, což umožňuje ničit patogeny. Pro správné kompostování chmele je potřeba, aby výška a šířka čerstvě nasypané hromady byla větší než 2 m. Po dokončení navážení zbytků chmele, zakryje se skládka fólií, aby byl zajištěn ohřev chmele také na povrchu hromady, přičemž fólie brání jejímu rozptýlení větrem, viz obrázek 6. Je doporučeno použít tmavou fólii, která umožňuje intenzivnější ohřívání skládky slunečním zářením a její umístění ve směru sever-jih, aby byly strany vystaveny co nejvíce slunečnímu záření. Po kompostování v délce 2 měsíce je možné vzniklý substrát použít na pole nebo louky v oblasti, kde se nepěstují hostitelské rostliny. V případě, že se zbytky infikovaného chmele převáží, je nutné zajistit dopravu tak, aby během přepravy nedošlo ke kontaminaci ostatních chmelnic. Při vyhazování zbytků chmele z česacího stroje je nutné zajistit jejich ukládání přímo na přívěs traktoru následný rychlý a bezpečný odvoz. Ničení zbytků chmele spalováním je možné provádět na zamořených pozemcích (způsobem, kterým nedojde k porušení zákonných ustanovení o ochraně ovzduší), v místech kde nehrozí nebezpečí požáru a rušení okolí, při zajištění všech podmínek bezpečnosti práce a spolupráce s hasiči. Tepelně neošetřený infikovaný chmel lze likvidovat na řízených skládkách.

Obrázek 6: Příklad tepelného kompostování chmele (Foto S. Radišek).

4. 4. Agrotechnika a výživa infikovaných chmelnic

Půdní houby se v přírodních podmínkách šíří velmi omezeně. Naopak v zemědělství, kde se intenzivně využívá zpracování půdy pomocí strojů a zařízení, dochází k nestálému mísení a přepravě půdy se zbytky rostlin se poměrně rychle šíří. Minimálním zpracování půdy může zpomalit šíření infekce ve chmelnici. Je proto doporučeno maximálně snížit počet pracovních operací, používat herbicidy proti plevelům a důsledně likvidovat všechny výhony chmele a širokolisté plevele (dvouděložné), které slouží jako hostitelské rostliny. Pro zabránění šíření infekce mezi chmelnicemi je kromě dezinfekce a čištění používaných zařízení před přesunem, důležitá také celková organizace polních prací Radišek (2018). Je doporučeno rozvrhnout pořadí prací ve vymezeném karanténním území tak, aby práce na zamořených pozemcích byly prováděny až jako poslední, a to před pracemi na pozemcích bezprostředně s nimi sousedícími (chmelnice, orná půda) a na těchto pozemcích pak před všemi ostatními, méně rizikovými. Pokud z nějakých závažných důvodů nebude možno toto pořadí prací dodržet, pak před přemístěním nářadí, mechanizace, kol traktorů, obuvi osob a dalšího vybavení použitého ze zamořených pozemků, případně z pozemků s nimi bezprostředně sousedících na méně rizikové pozemky, vždy provést očistu a dezinfekci.

Je známo, že nižší dávky dusíkatých hnojiv a vyšší dávky draslíku do půdy snižuje výskyt chorob ve chmelnicích. Účinek upraveného hnojení se rychle projevuje ve chmelnicích, ve kterých je přítomná mírná forma onemocnění. Pro dusíkaté hnojení jsou pro optimální výnos chmele doporučené dávky od 120 do maximálně 170 kg čistého dusíku/ha, zatímco vyšší dávky jsou nehospodárné, škodlivé prostředí a podporují rozvoj nemocí. Čistý dusík znamená součet minerálních a organických hnojiv. V případě infikovaných chmelnic je doporučeno použít maximálně 120 kg čistého dusíku/ha při dostatečném zásobení půdy

draslíkem v poměru 20–30 mg K_2O/100 g. V infikovaných chmelnicích je doporučeno používat hnůj v dávce do 20 m^3 /ha za rok. Ve chmelnicích s kyselou půdní reakcí je doporučeno vápnění, například zvýšením reakce půd na doporučenou hodnotu (pH 6-7) se negativně ovlivňuje konkurenceschopnost užitečných mikroorganismů proti V*erticilliu.* Ozimý ječmen a žito lze v meziřádkovém prostoru vysévat i na podzim po sklizni chmele a rostliny se pak na jaře zaorají, viz obrázky 7 a 8. Takto je půdní profil každoročně obohacen o organickou hmotu a užitečné organismy, které působí proti původci vadnutí chmele.

Obrázek 7: Súdánská tráva v meziřadí infikované chmelnice, potlačuje růst plevelů, brání migraci půdy a ochladí půdu během vysokých letních teplot. Po podzimním mulčování a orbě obohacuje půdu o organickou hmotu (Foto S. Radišek).

Obrázek 8: Ozimý ječmen v meziřádkovém prostoru v infikované chmelnici přes zimu brání vyplavování živin, po orbě obohacuje půdu o užitečné organismy a organické látky (Foto S. Radišek).

4. 5. Sanace infikované půdy

Na chmelnici, která byla zlikvidována kvůli vysoké infekci, je doporučeno pěstovat druhy rostlin nehostitelské pro *Verticillium*, jako jsou obiloviny a trávy po dobu delší než 4 roky (nejméně 4 ukončená vegetačních období). Saprofytické přežívání houby v půdě má klesající tendenci, zvláště při nepřítomnosti dvouděložných plevelů, houba při zatravnění, bez přítomnosti hostitelských rostlin vymizí po 3–5 letech. Před tím je nutné provést důkladné zničení všech zbytků chmele a rostlin, abychom eliminovali problém s reinfekcí. Sanaci půdy lze také úspěšně provést pomocí tzv. zeleného ladu po dobu 2 let, pomocí rostlin, které vylučují toxické látky pro *Verticillium* (biofumigace) viz tabulka 1. Je doporučeno vysévat súdánskou trávu, čirok, ječmen a žito Radišek (2018).

Tabulka 1: Příklad použití zeleného ladu na infikované chmelnici – zlikvidovaný porost

Rok likvidace porostu	Po sklizni chmele následuje likvidace porostu a setí zimní obiloviny
1. rok – vegetace	Po sklizni obilovin následuje setí čiroku nebo súdánské trávy pro zelený lad
2. rok – letní vegetace	V květnu výsev čiroku nebo súdánské trávy na zelený lad. Hygienický účinek je zvýšen, pokud během mulčování je půda

	hnojena vápenným dusíkatým vápnem dávce 400 kg/ha
2 rok na podzim nebo jaro 3. rok	Výsadba chmele

4. 6. Opětovné vysazení chmelnic

Při opětovné výsadbě chmelnic po provedení fytosanitárních opatření je doporučeno vysadit odrůdy rezistentní nebo tolerantní k *V. nonalfalfae*, které umožňují pokračování výroby bez rizika opakování závažných onemocnění. Zkušenosti ukazují, že při opětovné výsadbě citlivé odrůdy se příznaky infekce mohou znovu objevit po 3-4 letech. V ČR v současné době nejsou vysloveně tolerantní nebo rezistentní odrůdy k dispozici. Pro výsadbu je nezbytně nutné používat pouze zdravou certifikovanou sadbu.

4. 7. Šlechtění chmele na odolnost k Verticillium nonalfalfae

S prvním výskytem *Verticillium nonalfalfae* v České republice bylo zahájeno i šlechtění chmele na odolnost k této chorobě. Problematika šlechtění je dána tím, že zde s tímto typem šlechtění nejsou zkušenosti a chybí dostatečné zázemí. Z tohoto důvodu jsou testace na odolnost prováděny v zahraničí (Radišek, 2009) a současně se využívají biomolekulární metody pro stanovení genů odolnosti k tomuto patogenu. Řada odrůd má genetickou výbavu genů, které tvoří odolnost k *Verticillium nonalfalfae*. Romanko et al. (1996) uvádí, že americká odrůda Banner má toleranci k *Verticillium dahlie*. Ve šlechtění chmele se používají rezistentní odrůdy, které byly testovány v zahraničí. Jedná se především o odrůdy Cascade, Target, Galena atd. Tyto odrůdy jsou v kolekci genetických zdrojů chmele v České republice. Další odrůdy s geny odolnosti se začínají též uplatňovat ve šlechtění chmele. Další významnou částí pro výběr rodičovských komponentů je stabilita výkonnosti. Například odrůda Target vykazuje nižší stabilitu výnosu i obsahu alfa kyselin než odrůda Cascade (Nesvadba a Charvátová, 2020).

V současné době se realizují křížení s rodičovskými komponenty vykazující odolnost k *Verticillium nonalfalfae*. Následně probíhá výběr nejlepších jedinců ze získaných potomstev, na základě kvalitativních a kvantitativních znaků. U těchto vybraných jedinců se pak provádí DNA analýzy na stanovení odolnosti k *Verticillium nonalfalfae*. Odolnost bude následně ověřena v zahraničí pomocí umělých infekci a výsadby do infikovaných chmelnic (Svoboda a kol., 2019). Díky biomolekulárním metodám a spolupráci se zahraničními

pracovišti se daří tvorba nových českých odolných genotypů chmele k *Verticillium nonalfalfae*.

5. Srovnání novosti postupů

V předložené metodice je uveden souhrn současných poznatků a uvedeny návrhy opatření proti šíření, případně omezení infekce patogenem *Verticillium nonalfalfae* v chmelnicích. Vzhledem k charakteru patogena není možná přímá ochrana, je možné použít pouze integrovaný přístup daný kombinací navržených postupů a opatření.

6. Popis uplatnění metodiky

Metodika je primárně určena všem pěstitelům chmele a všem, kteří se problematikou zdravotního stavu chmele profesně zabývají nebo se o ni zajímají. Jedná se především o pracovníky ÚKZÚZ a další pracovníky z oblasti státní správy, pedagogy a studenty vysokých a středních škol, výzkumné pracovníky, obchodníky s chmelem, výrobce a distributory sadby, poradenské subjekty a zemědělský výzkum. Metodika však má ještě širší potenciál, neboť ji lze využít i jako vzdělávací materiál pro posluchače kurzů a vzdělávacích programů v oblasti a ochrany rostlin. Propagace metodiky bude podpořena prostřednictvím odborných akcí, které pro chmelařskou veřejnost každoročně pořádá Chmelařský institut s.r.o., a prostřednictvím jeho webových stránek www.chizatec.cz.

Metodika je koncipována tak, aby byla technicky co nejjednodušší, a přitom umožňovala dosáhnout uspokojivé výsledky. Přímé použití chemické ochrany proti *Verticilliu nonalfalfae* není možné. Proto je velký důraz kladen na uplatnění včasného zjištění infekce na základě vizuálních příznaků, laboratorní potvrzení infekce a zavedení příslušných fytosanitárních opatření. Důraz je kladen a desinfekci strojů a zařízení, likvidaci infikovaných částí chmele, plevelů a hostitelských rostlin ve chmelnicích a jejich okolí, na dodržování izolačních vzdáleností, správných agrotechnických zásad a používání ozdravené sadby. Při dodržování uvedených doporučení je možné škody u chmele vzniklé infekcí *Verticillium nonalfalfae* minimalizovat.

7. Ekonomické aspekty

7. 1. Náklady na zavedení uvedených postupů

Laboratorní diagnostické zázemí pro diagnostiku patogena na úrovni oboru (Chmelařský institut s.r.o., Žatec) a celostátní úrovní (ÚKZÚZ) jsou již vybudované a plně funkční a nejsou proto vyžadovány investiční náklady. Řada doporučení je na úrovni organizačních opatření, která nevyžadují zvýšené náklady.

Určité náklady jsou však spojeny s očistou nářadí a strojů, cenou desinfekčních prostředků, se zvýšenou pracností spojenou s častější kontrolou ve chmelnicích, označováním infikovaných rostlin a jejich vytrhávání rostlin a jejich následnou likvidací. Tyto více náklady odhadujeme částkou 5–20 tis. Kč na hektar chmele v závislosti na intenzitě infekce.

Metodika je koncipována tak, aby byla technicky co nejjednodušší, a přitom umožňovala dosáhnout spolehlivé výsledky. Přímé použití chemické ochrany proti *Verticillium nonalfalfae* není možné. Proto je velký důraz kladen na uplatnění včasného zjištění infekce na základě vizuálních příznaků, laboratorní potvrzení infekce a zavedení příslušných fytosanitárních opatření. Důraz je kladen na desinfekci strojů a zařízení, likvidaci infikovaných částí chmele, plevelů a hostitelských rostlin ve chmelnicích a jejich okolí, na dodržování izolačních vzdáleností, správných agrotechnických zásad a používání zdravé, certifikované sadby, pokud možno rezistentních či tolerantních odrůd chmele. Při dodržování uvedených doporučení je možné škody u chmele vzniklé infekcí *Verticillium nonalfalfae* minimalizovat. V případě infekce náklady závisí na stupni napadení a zavedených fytosanitárních opatřeních.

V produkčních chmelnicích sice není patogen regulovaný, ale vzhledem k závažnosti je lepší vždy konzultovat jeho výskyt či podezření na výskyt s místně příslušným inspektorem Odboru terénní inspekce ÚKZÚZ. Důležitým aspektem je i to, že metodika v této podobě přináší ucelený soubor informací a postupů, které je možné využít v praxi.

7. 2. Předpokládané ekonomické přínosy pro uživatele

Při infekci chmele patogenem *Verticillium nonalfalfae* mohou být ekonomické škody až 100% v případě, že dojde k likvidaci porostu a chmelnicové konstrukce. Naštěstí se tento patogen u nás u chmele zatím běžně nevyskytuje, a tak je možné provádět kalkulaci možných

přínosů nebo škod pouze na základě jednoho případu infekce z roku 2017, lokalita Lipník, okres Přerov. Vzhledem k závažnosti situace a možnosti dalšího šíření byla nařízena ze strany ÚKZÚZ mimořádná fytosanitární opatření a v rámci nich rozhodnuto napadenou plochu 5 ha chmele kompletně zlikvidovat (porost i chmelovou konstrukci), přičemž celková vzniklá škoda byla vyčíslena částkou 6 milionů. Na základě těchto skutečností je proveden následující výpočet ekonomických přínosů pro uživatele. Při napadení pouze 1 % plochy pěstovaného chmele v ČR (4 966 ha) by mohlo dojít ke škodě 60 milionů Kč.

8. Seznam použité literatury:

Clarkson, J.M., Heale, J.B. (1985) Heterokaryon kompatibility and genetic recombination within a host plant between hop wilt isolates of *Verticillium albo-atrum. Plant Path.,* 34, 129-138

Duniway JM (2002) Status of chemical alternatives to methyl bromide for pre-plant fumigation of soil. Phytopathology **92**, 1337–1343

Fradin EF & Thomma BPHJ (2006) Physiology and molecular aspects of Verticillium wilt diseases caused by V. dahliae and V. albo-atrum. Mol Plant Pathol **7,** 71–86

Freeman, W.J. (1980) Fungl recolonization of partially sterilized soil. Rep. E. Malling Res. Stn. *for 1979,* 95

Harris, R.V. (1927) A wilt disease for hops. Rep. E. Malling Res. Stn. For 1925, II Suplement, 92-93

Hastie, A.C. (1962) Genetic recombination in the hop with the fungus *Verticillium albo-atrum*. *J.Gen. Microbiol.* **27**, 373–382

Chambers, D.A. (1985) Field performance Wye Target hops on „wilt“ land. *Rep. E. Malling Res. Stn. for 1984,* 231–232

Christie, T. (1956) A note on an outbreak Of Verticillium wilt in a Nelson Hop garden. *N.Z.J. Csi. Tech. Sect. A,* **38**, 15–16

Inderbitzin, P., Richard M. Bostock, R. Michael Davis, Toshiyuki Usami, Harold W. Platt, Krishna V. Subbarao (2011): Phylogenetics and Taxonomy of the Fungal Vascular Wilt Pathogen Verticillium, with the Descriptions of Five New Species. PLoS ONE, 2011, 6(12): e28341. doi:10.1371/journal.pone.0028341

Inderbitzin, P., Davis, R. M., Bostock, R. M., Subbarao, K. V. (2013). Identification and differentiation of Verticillium species and V. longisporum lineages by simplex and multiplex PCR assays. PLoS ONE, 2013, 8(6), e65990. doi: 10.1371/journal.pone.0065990

Isaac, I., Keyworth, W.F. (1948) Verticillium wilt of the hop (*Humulus lupulus*) III. A study of the pathogenicity of isolates from fluctuating and from progressive outbreaks. *Ann. Appl. Biol.,* **35**, 243-249

Jakše J., Jelen V., Radišek S., de Jonge R., Mandelc S., Majer A., Curk T., Zupan B., Thomma BPHJ &, Javornik B. (2018) Genome Sequence of a Lethal Strain of Xylem-Invading *Verticillium nonalfalfae*. Genome Announcement **6**: e01458-17. doi: 10.1128/genomeA.01458-17

Kamm L. (1970) Dűngung und Welkekrankheit. *Hopfen Rundschau,* **21**, 110–115

Keyworth, W.G. (1942) Verticillium wilt of the hop *(Humulus lupulus). Ann. Appl. Biol.* **29,** 346–357

Keyworth, W.G. (1953) Verticillium wilt of the hop. VI. The relative roles of root and stem in the determination of wilt Severiny.*Ann. Appl. Biol.* **40,** 344–361

Maurer KA, Berg G, Radišek S. and Seefelder S. (2013) Real-time PCR assay to detect *Verticillium albo-atrum* and *V. dahliae* in hops: development and comparison with a standard PCR method. *Journal of Plant Diseases and Protection* **120,** 105–114

Mohan, S.B., Ride, J.P. (1984) Some biochemical and morphological characteristics of serotypes of *Verticillium albo-atrum* from hop. *J. Gen. Microbiol.,* **130**, 3202–3219

Radišek, S. (2004) Development of pathotype – specific SCAR markers for detection of Verticillium albo – atrum isolates from hop. Plant – Disease, .**80** (10), 1115–1122

Radišek, S., Jakše J., Javorník B., (2006) Genetic variability and virulence among Verticillium albo – atrum isolates from hop. European Journal of Plant patology, v. **116**, no.4, p. 301–314

Radišek, S. (2018) Verticilijska uvelost hmelja.
https://www.ivr.si/wpcontent/uploads/2018/05/Verticilijska-uvelost-hmelja.pdf

Radišek, S.; Razinger, J. (2019) Testing of biofungicids against Verticillium wilt and fusarium diseases of tomato. (Preiskušanje biotičnih pripravkov za zatiranje verticilijske uvelosti in fuzarijskih obolenj paradižnika). *Hmeljarski Bilten* **26,** 176–187

Romanko R., Nickerson G., Jaeger J, Kenny S., Skotland C. (1996). Registration of „Banner“ hop. Crop Science, **36** (5):1417

Sewell, G.W.F., Wilson, J.F. (1966) Verticillium wilt of the hop: the survival of *V. alb o-atrum* in the soil. *Ann. Appl. Biol.,* **58**, 241–249

Sewell, G.W.F., Wilson, J.F. (1974) The influence of normal tillage and of non-cultivation on Verticillium wilt of the hop. *Ann. Appl. Biol.,* **76**, 37–47

Sewell, G.W.F., Wilson, J.F. (1980) Pathogenic variation in *Verticillium albo-atrum* isolates from hop (*Humulus lupulus*). *Ann. Appl. Biol.,* **94**, 280–281

Sewell, G.W.F., Wilson, J.F. (1984) The nature and distribution of *Verticllium albo-atrum* strains highly pathogenic for the hop. *Plant Path.,* **33**, 39–51

Sewell, G.W.F., Wilson, J.F., Luckhurst, P.M. (1971) Uptake and influence of a systemic fungicide. *Rep. E Malling Res. Stn. for 1978,* 96–97

Talboys, P.W., Wilson, J.F. (1954) A Metod for determining the pathogenicity of strains of *Verticillium albo-atrum* isolatér from the hop. *Rep.E. Malling Res. Stn. for 1953,* 158–161

Webb, H.M., Gafoor, A., Heale, J.B. (1972) Protein and enzyme patterns in strains of *Verticillium. Trans. Brit. Mycol. Soc.,* **59**, 393402

Wilderspin, I. F., Heale, J.B., Talboys, P.W., Chambers, D.A. (1983) Biological control. *Rep. E. Malling Res. Stn. for 1982,* 87

Zattler, F. (1960) Uber die Beeinflussung des Bitterstoffgehaltes der Hopfendolden durch mikroklimatische Faktoren. *Brauwelt*, **100**, 1402–1405

Zehsazian, H. (1968) Verticillium wilt of hops: pathogenicity, host range and temperature relations of the causa agents. *Diss. Abstr.,* **29** (1)B, 11–12

9. Seznam publikací, které předcházely metodice:

Sumíková T, Žabka M., Svoboda P., Hýsek J.: Multiplex PCR pro rozlišení *Mortierella elongata* od původce kořenové a krčkové hniloby chmele *Phytophthora citricola.* Úroda 12/2016, vědecká příloha časopisu, 289–292, ISSN 0139-6013

Svoboda P.: Verticilliové vadnutí chmele. Seminář k agrotechnice chmele. Sborník přednášek a příspěvků ze semináře konaného dne 28. 2. 2018, Žatec, ISBN 978–80–86836–21–8, s. 205–210

Svoboda P. Verticilliové vadnutí chmele. In: Chmelařská ročenka 2019. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2019, s. 397–402, ISBN 978-80-86576-83-1

Svoboda P., Nesvadba V., Patzak J., Vostřel J.: Tvorba genotypů chmele odolných k *Verticillium nonalfalfae* vhodných pro pěstování v České republice i v rámci Evropské unie, projekt Eureka LTE218007.Chmelařství 11-12/2018, 141–143, ISSN 0373-403X

Nesvadba, V., Charvátová, J., 2019: Hodnocení výkonnosti a variability odrůd chmele s tolerancí k *Verticillium nonalfalfae*. Úroda 11, 2019: 78–81, ISSN 0139-6013

Nesvadba, V., Charvátová, J., Trnková S.: Stabilita výkonnosti odrůd chmele s tolerancí k *Verticillium nonalfalfae*. Rostlinolékař 3, 2020, 13–16, ISSN 1211-3565

Nesvadba, V., Charvátová, J., Trnková S., Hodnocení českých odrůd chmele s tolerancí k *Verticillium nonalfalfae*. Úroda 9, 2020, 67–69, ISSN 0139-6013

Nesvadba V., Svoboda P., Charvátová J.: Hodnocení stability výkonnosti odrůd chmele s tolerancí k *Verticillium nonalfalfae.* Chmelařství 7-9/2020, 86–91. ISSN 0373-403X