

# Závěrečná zpráva projektu NAP



**Chmelařský  
institut s.r.o.**

## 1. Uvedení čísla smlouvy a čísla jednacího

Smlouva č. 87-2024-18111, Č.j.: MZE-38526/2024-18111

## 2. Název aktivity

Monitoring výskytu *Verticillium nonalfalfae* v produkčních chmelnicích na území ČR v roce 2024

## 3. Zadání podle smlouvy

Zhotovitel se zavazuje provádět monitoring výskytu *Verticillium nonalfalfae* v produkčních chmelnicích na území ČR v roce 2024. Pro potřeby této smlouvy to znamená:

Monitoring výskytu *Verticillium nonalfalfae* pro jeho další šíření v Žatecké chmelařské oblasti, a to i jiných pěstitelů chmele, celkem na 24 lokalitách. Monitoring bude prováděn v chmelařských oblastech – Žatecko, Úštěcko a Tršicko. Odběry budou probíhat na 60 lokalitách. V rámci inspekce produkčních porostů budou odebírány vzorky potencionálně napadených rostlin chmele od června do sklizně roku 2024. V rámci aktualit Svazu pěstitelů chmele ČR bude informace rozšířena pěstitelům všech pěstitelských oblastí. K detekci patogenu budou využity molekulární metody specifické PCR a kvantitativní real time PCR (qRT-PCR). Laboratoř Chmelařského institutu je plně vybavena a v rámci MPZ testů na molekulární diagnostiku *Verticillium*.

Verticiliové vadnutí je velmi obtížné regulovat, vzhledem k biologii, patogena, který v půdě může přetrvávat po dlouhou dobu a škody mohou být až 100 %, končící likvidací porostu. Přímé použití chemické ochrany proti *Verticillium 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 metodických doporučení je možné škody u chmele vzniklé infekcí *Verticillium nonalfalfae* minimalizovat.

Zjištěné výsledky budou prezentovány pěstitelské veřejnosti, Svazu pěstitelů chmele ČR a na rostlinolékařském portále ÚKZÚZ.

#### 4. Název a sídlo subjektu

Chmelařský institut s.r.o., Kadaňská 2525, 438 01 Žatec

#### 5. Jméno garanta

Ing. Josef Patzak, Ph.D.

#### 6. Spoluřešitelské organizace a jména garantů

Projekt byl řešen bez spoluřešitelských pracovišť.

#### 7. Celkové náklady včetně DPH (a rozpis nákladů na spoluřešitelské organizace, nebo organizace provádějící služby)

Celkové náklady jsou uvedeny v následující tabulce a odpovídají plánovaným nákladům.

Položka	Kč
Osobní náklady	385 042,0
Služby	0,0
Materiál	200 000,0
Cestovné	10 000,0
Režie	66 115,0
celkem bez DPH	661 157,0
DPH	138 843,0
Celkem	800 000,0

V rámci nákladů nebyly hrazeny žádné služby či další náklady u spoluřešitelských organizací.

#### 8. Datum předání díla

15. 11. 2024

#### 9. Výsledky aktivity

Podle smlouvy se zhotovitel zavázal provádět monitoring výskytu *Verticillium nonalfalfae* v produkčních chmelnicích na území ČR v roce 2024. Monitoring výskytu *Verticillium nonalfalfae* byl prováděn na 85 lokalitách ve třech chmelařských oblastech – Žatecko, Ústěcko a Tršicko. Usychání a symptomy choroby se nejvíce projevují u vzrostných rostlin, proto byly provedeny první monitorovací návštěvy chmelnic koncem června. V této době na žádných

lokalitách potencionálně napadené rostliny chmele nebyly patrné. Od začátku července pak byly na jednotlivých lokalitách sterilně odebírány vzorky lýkové části stonků ve výšce 30 až 40 cm od země z potencionálně napadených, symptomatických či zasychajících rostlin. Na dvou infikovaných lokalitách byly odebírány též vzorky zeminy. Vzorky byly odebírány až do sklizně, která probíhala v ČR od 16. 8 do 24. 9. 2023. Označené vzorky s polohopisem byly v chladicím boxu přepraveny do laboratoře oddělení Biotechnologie, kde byly uloženy v mrazicím boxu (-45°C) do zpracování. Ze vzorků byla vyizolována DNA kity DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Hilden, SRN) a EZNA Fungal DNA Mini Kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, USA) dle firemního protokolu. Pro izolaci DNA ze vzorků zeminy byl použit protokol, používaný a publikovaný pracovníky Národní referenční laboratoře ÚKZÚZ v Bulletinu:

Svobodová I, Orságová H, Tománková K, Bergová E, Beránek J, Čermák V: Diagnostika původce verticiliového vadnutí chmele v rostlinném materiálu a v půdě. Bulletin NRL Ročník XXVII, číslo 2/2023, 1-23.

Koncentrace izolované DNA je poté kvantifikována absorbancí UV záření vlnové délky 260 nm na UV-VIS spektrofotometru (UV-1601, Shimadzu, Japonsko) a následně upravena pro PCR na doporučenou koncentraci 10 ng na mikrolitr. Pro další použití je DNA skladována v mrazicím boxu při -20°C.

K detekci patogena byly využity metody specifické PCR a kvantitativní real time PCR (qRT-PCR). Pro detekci a odlišení *Verticillium nonalfalfae* a *Verticillium dahliae* byly použity specifické primery qVno-F: GGCTTTTGCTTCTCTTG a qVno-R: 5'-GACCAAATGTAATTGTCCAG, amplifikující produkt o velikosti 150 pb, a qVda-F: GGCTCAAGTTAACTACGG a qVda-R: 5'-CTGTCATGTATATAAGATACTACTG, amplifikující produkt o velikosti 123 pb, podle publikace:

Maurer KA, Radišek S, Berg G, & 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 Disease and Protection 120: 105-114.

Pro detekci jednotlivých isolátů *Verticillium nonalfalfae* byly použity specifické primery qPG1-F: AGCCCCGTCGCCTGTAAT a qPG1-R: 5'-GTTCCCTACATGGCAGCTTCA, qPG2-F: GAGCGGGTTCGATACGATTCA a qPG2-R: 5'-GGTGATGTCCAGCACAGTGATAC, a qPG1+2-F: GGTAACGTCATCGAACGACATC a qPG1+2-R: 5'-CACACGCTACATATCAAACAGCATAT, amplifikující produkty o velikosti kolem 150 pb, podle publikace:

Guček T, Štajner N & Radišek S (2015) Quantification and detection of *Verticillium albo-atrum* in hop (*Humulus lupulus*) with real-time PCR Hop Bulletin 22(2015): 26-39.

Pro detekci letálního isolátu *Verticillium nonalfalfae* pak byly pro kontrolu ještě použity specifické primery 4CHR4-F: CGAGGGCCCTTATACATCAA a 4CHR4-R: CTAATGAAGGCGGTGGGTAA, které amplifikují fragment 585 pb, podle publikace:

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 Announc. 6: e01458-17.

Reakční směs, časový a teplotní profil kvantitativní real time PCR reakce byly provedeny na základě metodiky uvedené v publikacích a závěrečné zprávě projektu NAP v roce 2023. Pro všechny molekulární detekce byly použity negativní a pozitivní kontroly jednotlivých isolátů.

Výsledky všech analýz a monitoringu výskytu *Verticillium nonalfalfae* jsou uvedeny v následující tabulce.

Lokalita	Počet vzorků	Negativní	Pozitivní	Patotyp
Žatecko				
Ročov	6	3	3	PG1, PG2
Zbrašín	3	0	3	PG2
Hřivice	2	0	2	PG2
Pnětluky	17	12	5	PG1, PG2
Domoušice	17	15	2	PG1
Smilovice	4	2	2	PG2
Veletice	3	2	1	PG2
Čínov	5	0	5	PG2
Deštnice	4	0	4	PG2
Brloh	1	1	0	
Břínkov	1	1	0	
Divice	1	1	0	
Vinařice	1	1	0	
Líštany	3	3	0	
Smolnice	1	1	0	
Solopysky	8	8	0	
Úlovice	1	1	0	
Konětopy	1	1	0	
Nová Ves	1	1	0	
Brodec	1	1	0	
Senkov	1	1	0	
Hořany	1	1	0	
Třeboc	1	1	0	
Soběchleby	1	1	0	
Kroučová	1	1	0	
Pochválov	1	1	0	
Mutějovice	1	1	0	
Kounov	1	1	0	
Nesuchyně	1	1	0	
Tuchořice	1	1	0	
Markvarec	1	1	0	
Třeskonice	1	1	0	
Nečemice	1	1	0	
Svojetín	1	1	0	
Velká Černoc	1	1	0	
Malá Černoc	1	1	0	
Nesuchyně	1	1	0	
Sedčice	1	1	0	
Lipno	1	1	0	
Liběšice	1	1	0	

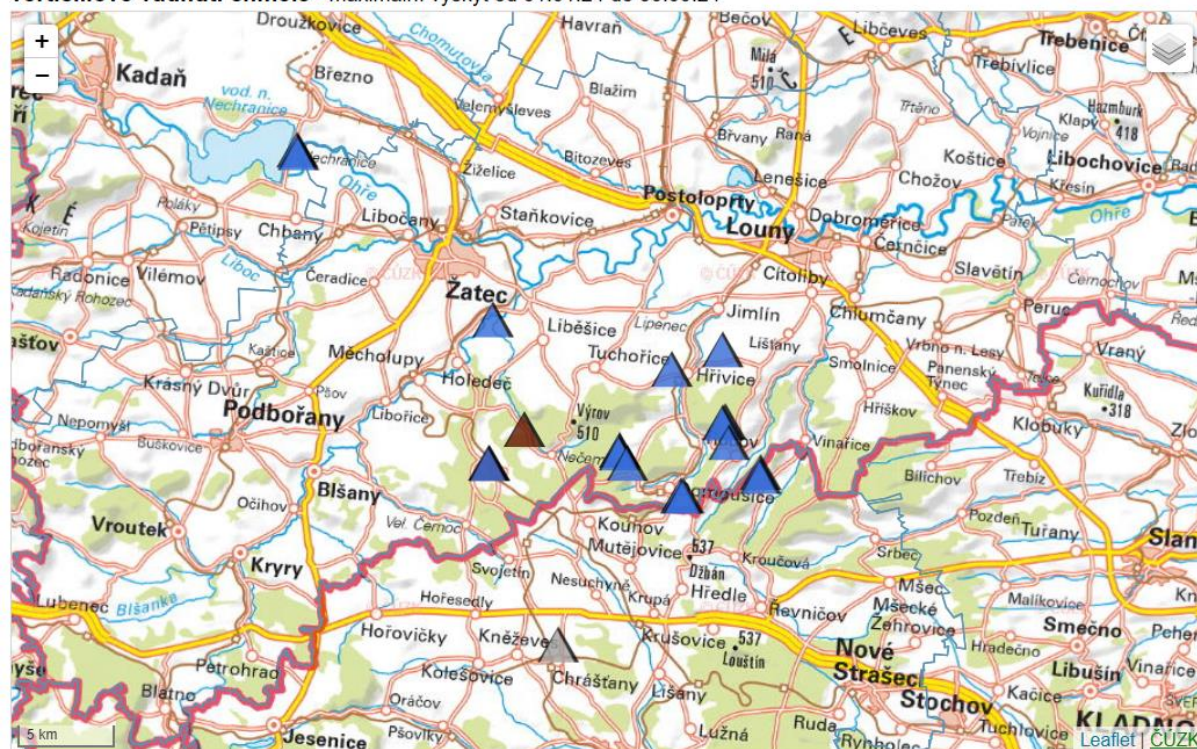
Stekník	3	3	0	
Dubčany	1	1	0	
Dobříčany	1	1	0	
Trnovany	1	1	0	
Hradiště	1	1	0	
Lišany	1	1	0	
Holedeč	1	1	0	
Holedeček	2	2	0	
Měcholupy	1	1	0	
Libořice	1	1	0	
Liběšovice	1	1	0	
Sířem	1	1	0	
Želeč	1	1	0	
Blšany	1	1	0	
Očihov	1	1	0	
Očihovec	1	1	0	
Běsno	1	1	0	
Strojetice	1	1	0	
Kryry	1	1	0	
Černčice-Petrohrad	1	1	0	
Drahonice	1	1	0	
Chrášťany	1	1	0	
Kněžves	1	1	0	
Olešná	1	1	0	
Přílepy	1	1	0	
Kolešovice	4	4	0	
Zderaz	1	1	0	
Heřmanov	1	1	0	
Vlkov	1	1	0	
Hokov	1	1	0	
Děkov	1	1	0	
Milostín	1	1	0	
Strkovice	1	1	0	
Mradice	1	1	0	
Skupice	1	1	0	
Malnice	1	1	0	
Postoloprty	1	1	0	
Obora u Loun	1	1	0	
Lenešice	1	1	0	
Dobroměřice	1	1	0	
Ústěcko				
Radovesice	2	2	0	
Brozany	2	2	0	
Okna	2	2	0	
Liběšice u Ústěka	2	2	0	
Tršicko				
Lipník nad Bečvou	2	2	0	

V rámci aktivity tak bylo otestováno celkem 157 vzorků z 85 lokalit. Z celkového počtu bylo 130 negativních a 27 pozitivních vzorků na výskyt *Verticillium nonalfalfae*. Pozitivní vzorky byly nalezeny pouze v Žatecké chmelařské oblasti, a to především na lokalitách, kde již byl zaznamenán výskyt v minulých letech. Na lokalitě Ročov, kde bylo *Verticillium* detekováno na Žatecku jako první, a to vysoce letální patotyp PG2, byl v rámci monitoringu nalezen také středně letální patotyp PG1. Velice pozitivní je, že ZD Podlesí Ročov se snaží fyto-sanitárními opatřeními zabránit šíření patogena na další plochy, což potvrdil i náš monitoring. Výskyt byl většinou lokálně omezený na několik rostlin vedle sebe v řádku a přes řádek. Nejhůře zasaženou lokalitou byla chmelnice Sládka na lokalitě Čínov (viz. fotodokumentace). Domníváme se, že bude nutné tento porost zrušit. Také na této lokalitě se vyskytuje letální patotyp PG2, který byl na tuto lokalitu zavlečen sadbou odrůdy Most, která se vyskytovala na vedlejší chmelnici. Další výrazně napadenou chmelnici letálním patotypem PG2 byla na lokalitě Hřivice (viz. fotodokumentace), kde již byl porost na několika řádcích odstraněn. Přesto se na obou stranách prázdné chmelnice v okolních řádcích vyskytovalo mnoho napadených rostlin. I na této lokalitě se vyskytoval šlechtitelský materiál firmy Hop Products, která spolupracovala na šlechtění z Velkou Británií. Dalšími lokalitami, kde již byl výskyt potvrzen v minulých letech byly chmelnice na lokalitách Zbrašín, Smilovice, Veletice, Pnětluky a Domoušice. Výskyt byl vždy omezený na několik či jedinou rostlinu v celém bloku chmelnice. Na lokalitách Pnětluky a Domoušice, kde hospodář CHMEL PODLESÍ s.r.o., byl nalezen středně letální patotyp PG1, ale i vysoce letální patotyp PG2. Potvrdila se tak naše domněnka, že byly do ČR zavlečeny oba patotypy na lokalitu Ročov, odkud se infekce dostala na tyto chmelnice. Na obou lokalitách byl proveden také odběr vzorků z půdy, abychom si ověřili možnosti detekce patogena z tohoto substrátu. Analýzy ukázaly, že infikované rostliny byly ze stejných půdních bloků, kde byl patogen identifikován i v půdě. Nově bylo *Verticillium nonalfalfae* vysoce letální patotyp PG2 nalezeno na lokalitě v Deštnici (viz. fotodokumentace). Na této lokalitě hospodář firma Emil Bureš HOPSERVIS s.r.o., stejně tak jako na lokalitě Veletice a Lhota u Nečemic, kde již bylo *Verticillium* detekováno pracovníky ÚKZÚZ. Jedná se opět o vysoce letální patotyp PG2, ale na chmelnicích tohoto pěstitele se nevyskytoval žádný materiál firmy Hop Products. Proto lze zatím jen spekulovat, jak byla na tyto lokality infekce zavlečena. Jednou z možností je, že zde byla infekce zavlečena z Německa, když firma má velmi úzké vazby na německou firmu BartHaas.

Že je důležité monitoring provádět se ukázalo jako velice účinné pro vyloučení možnosti záměny z jinými patogeny, výživovými problémy či mechanickým poškozením rostlin (viz. fotodokumentace). Především vadnutí způsobené infekcí rodem *Fusarium* vykazovalo velice podobné symptomy, ale molekulární detekce jasně vyloučila napadení *Verticillium nonalfalfae* nebo *dahliae*. Rok 2024 měl také výrazně vlhký charakter v červnu a při dlouhodobém podmáčení rostlin docházelo k fyziologickému vadnutí a odumírání rostlin.

Získané výsledky byly prezentovány pěstitelské veřejnosti a Svazu pěstitelů chmele ČR v rámci pravidelných Aktualit, rozesílaných e-mailem. Členská základna pak byla seznámena s výsledky řešení projektu na pravidelné členské schůzi, která se konala 23. 10. 2023 v aule Chmelařského institutu s.r.o. Získané výsledky byly také zaslány e-mailem pracovníkům ÚKZÚZ. Tyto výsledky pak byly umístěny na rostlinolékařský portál ÚKZÚZ, společně s výsledky jejich monitoringu, jak ukazuje následující obrázek. Výsledky plánujeme také publikovat v časopise Rostlinolékař. Hlavními uživateli uplatnění výsledků tak jsou Svaz pěstitelů chmele ČR, MZe ČR a ÚKZÚZ

**verticiliové vadnutí chmele - maximální výskyt od 01.01.24 do 30.09.24**



**Počty a plocha lokalit**

Třída výskytu	Náhodný průzkum	Lokalit celkem	Plocha celkem
● bez výskytu      výskyt nepotvrzen	1	1	2,6 ha
● výskyt              výskyt potvrzen	2	2	6,0 ha
● externí nálezy      potvrzený výskyt mimo ÚKZÚZ	16	16	0,0 ha
<b>Počet lokalit / plocha celkem</b>	<b>19</b>	<b>19</b>	<b>8,7 ha</b>

**10. Přínosy aktivity ve vazbě na cíl/cíle v NAP**

Účelem projektu je přispět k řešení cílů NAP:

**Cíl 2 (NAP)** Optimalizace použití POR bez omezení rozsahu zemědělské produkce - podpora ověření a zavádění a optimalizace stávajících a vývoj chybějících plodinově zaměřených nechemických metod ochrany rostlin a metod ochrany s nízkými vstupy přípravků využitelných v ekonomických a výrobních podmínkách ČR (NAP 2018 – 2022, str. 22).

Přínosem monitoringu výskytu *Verticillium nonalfalfae* v produkčních chmelnicích na území ČR je včasné zjištění infekce na základě vizuálních příznaků, a laboratorního potvrzení infekce, které tak umožňuje rychlé zavedení příslušných fyto-sanitárních opatření. Při dodržování metodických doporučení je tak možné škody u chmele vzniklé infekcí *Verticillium nonalfalfae* minimalizovat. Hlavním přínosem pro naplňování cílů NAP je tak eliminovat ohrožení produkce chmele v ČR, za využití nechemických metod ochrany rostlin a metod ochrany s nízkými vstupy přípravků.

## 11. Výhled na řešení aktivity na následující rok

Projekt na monitoring výskytu *Verticillium nonalfalfae* v produkčních chmelnicích na území ČR byl plánován jako jednoletý na rok 2024. Detekovaný výskyt *Verticillium nonalfalfae* a jeho další šíření v rámci Žatecké oblasti, možnosti záměny za vadnutí způsobené patogeny rodu *Fusarium*, vede k závěru, že je nutné pokračovat v řešení této aktivity i v následujícím roce 2025.

## 12. Souhrn

V rámci monitoringu výskytu *Verticillium nonalfalfae* v produkčních chmelnicích na území ČR bylo otestováno celkem 157 vzorků z 85 lokalit. Z celkového počtu bylo 130 negativních a 27 pozitivních vzorků na výskyt *Verticillium nonalfalfae*. Infekce byla prokázána v chmelnicích na lokalitách Ročov, Zbrašín, Hřivice, Pnětluky, Domoušice, Smilovice, Veletice, Čínov a Deštnice. Na lokalitách Ročov, Zbrašín, Hřivice, Pnětluky, Smilovice, Veletice, Čínov a Deštnice byl potvrzen výskyt vysoce letálního patotypu PG2. Středně letální patotyp PG1 byl nalezen na lokalitách Ročov, Pnětluky a Domoušice. Výsledky byly prezentovány pěstitelské veřejnosti, Svazu pěstitelů chmele ČR a pracovníkům ÚKZÚZ, kde pak byly umístěny na rostlinolékařský portál ÚKZÚZ

Náklady na řešení aktivity byly celkem 800 tis. Kč s DPH. Náklady byly vedeny v samostatné účetní evidenci. Náklady byly použity na osobní náklady (mzdy, sociální a zdravotní pojištění) pracovníků zapojených do řešení aktivity, na provozní náklady (materiál a provoz potřebný k testování patogena), na cestovné v souvislosti se zajišťováním monitoringu a odběru vzorků a nepřímé režijní náklady.

Přínosem řešení aktivity bylo včasné zjištění infekce *Verticillium nonalfalfae* v produkčních chmelnicích na území ČR, které umožňuje rychlé zavedení příslušných fyto-sanitárních opatření. Jelikož je *Verticillium nonalfalfae* závažný patogen chmele, který ohrožuje budoucnost pěstování chmele jak v Čechách, tak na Moravě, domníváme se, že je nutné provést další monitoring v jednotlivých pěstitelských oblastech i v dalších letech.

V Žatci, 12. 11. 2024

Ing. Josef Patzak, Ph.D.  
jednatel Chmelařského institutu s.r.o.



## Příloha zprávy



Fotodokumentace z lokality Čínov



Fotodokumentace z lokality Hřivice



Fotodokumentace z lokality Deštnice



Fotodokumentace z lokality Solopysky - vadnutí způsobené rodem *Fusarium*



Fotodokumentace z lokality Solopysky – fyziologické vadnutí z nedostatku některého z prvků



Fotodokumentace fyziologického vadnutí způsobeného mechanickým poškozením