

Chmelařský institut s. r. o.



## **METODIKA HODNOCENÍ ZDRAVOTNÍHO STAVU CHMELE**

Ing. Petr Svoboda, CSc.

Certifikovaná metodika

## **Metodika hodnocení zdravotního stavu chmele**

Certifikovaná metodika

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

Chmelařský institut s.r.o.

Kadaňská 2525

438 01 Žatec

Posudek pracovníka státní správy: **Ing. Zdeněk Nesvadba**

Ústřední a kontrolní ústav zemědělský (ÚKZÚZ)

Sekce rostlinné výroby, Oddělení chmele

Pracoviště zkoušení odrůd chmele Žatec

Odborný referent pro plodiny

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

Družstvo Agrochmel

Nová 392

270 01 Kněžves u Rakovníka

Metodika vznikla za finanční podpory Technologické agentury ČR a je výstupem řešení projektu č. **TE02000177 "Centrum pro inovativní využití a posílení konkurenceschopnosti českých pivovarských surovin a výrobků,,**. Metodika prošla oponentním řízením. O uplatnění metodiky byla dne 18. 12. 2017 uzavřena smlouva podle § 1746, odstavec 2, zákona č. 89/2012. ÚKZÚZ jako certifikační orgán, vydal dne 20. 12. 2017 Osvědčení UKZUZ 12569/2017 o uznání uplatněné certifikované metodiky.

**Vydavatel Petr Svoboda**

**ISBN 978-80-86836-19-5**

Anotace:

Viry a viroidy vyvolávají u napadených rostlin choroby, které způsobují u chmele vážné hospodářské ztráty na kvantitě a kvalitě výnosu hlávek. Chmel je vytrvalá plodina, pěstovaná až 20 i více let na jednom stanovišti, je těmito patogeny velmi vážně poškozován. Na základě předchozího výzkumu předpokládáme, že škody na výnosu mohou dosáhnout 10–20 % a ztráty na obsahu alfa hořkých kyselin jako pivovarnicky nejdůležitější komponenty chmelové hlávky pro výrobu piva mohou být 10–30 %.

Správné a rychlé určení chorob a jejich původců je základem pro kvalitní rozhodování k provedení potřebných agro-technických opatření. Vizuální hodnocení je jedním z prvních hodnocení zdravotního stavu porostu chmele. Umožňuje označit a z porostu odstranit infikované rostliny a zabránit dalšímu šíření infekce sadbou. Infikované rostliny jsou především rezervoárem původců infekce, kteří v rostlině přežívají, množí se a jsou pomocí vektorů dále přenášeni na další rostliny, a tak se infekce v porostu stále rozšiřuje. Nalezení a odstranění infikovaných rostlin představuje rychlý a relativně levný léčebný zásah.

Rychlá a spolehlivá diagnostika virových infekcí je nezbytná pro hodnocení zdravotního stavu. Laboratorní metody diagnostiky umožňují rychlou a spolehlivou diagnostiku vlastních patogenů. Uvedené metody jako jsou Imunoenzymatická metoda ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), hybridizační metoda dot-blot, nejsou jediné a konečné, vývoj nových metod neustále probíhá, nastupují moderní molekulární metody postavené na principu reakce PCR (Polymerase chain reaction – polymerázová řetězová reakce), nejnověji v provedení RT – PCR (Real time PCR tj. v reálném čase), které ale nejsou předmětem této metodiky, protože jejich širší uplatnění u chmele je předmětem vývoje. Metodika řeší problematiku vlastní diagnózy a uplatnění uvedených metod pro stanovení infekčních patogenů chmele.

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

## Obsah

### **1. Cíl metodiky**

### **2. Dedikace**

### **3. Vlastní popis metodiky**

#### 3. 1. Vizuální hodnocení

#### 3. 2. Virové choroby chmele

##### 3. 2. 1. Kreslená mozaika

##### 3. 2. 2. Zborcení listů

##### 3. 2.3. Kopřivovitost chmele - Nettlehead

##### 3. 2. 4. Anglická mozaika chmele

#### 3. 2. Diagnostika virových chorob

##### 3. 2. 1. Metoda ELISA

##### 3. 2. 2. Diagnostika viroidů

#### 3. 3. Viry a viroidy

##### 3. 3. 1. Virus mosaiky jabloně - ApMV

##### 3. 3. 2. Skupina carlavirus

##### 3. 3. 3. Viroid zakrslosti chmele - HSVd

##### 3. 3. 4. Další viry a viroidy

##### 3. 3. 4. 1. Viroid vrásčitosti plodu jabloně - AFCVd

##### 3. 3. 4. 2. Viroid praskání kůry citroníku - CBCVd

##### 3. 3. 4. 3. Latentní viroid chmele - HLVd

##### 3. 3. 4. 4. Ostatní viry

### **4. Základní opatření proti šíření virů a viroidů**

### **5. Srovnání novosti postupů**

### **6. Popis uplatnění certifikované 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**

### **10. Obrázky**

#### **1. Cíl metodiky**

Výzkumný projekt **TE02000177 "Centrum pro inovativní využití a posílení konkurenceschopnosti českých pivovarských surovin a výrobků"** se zabývá komplexním řešením problematiky spojené s kvalitou produkovaného chmele, a tak posílení konkurence schopnosti českého chmelařství. Dobrý zdravotní stav je základním předpokladem pro úspěšné pěstování a dosažení plánovaných ekonomických přínosů. Hlavním cílem této metodiky je rychlé a spolehlivé hodnocení zdravotního stavu chmele založené na hodnocení viditelných symptomů na infikovaných rostlinách a spolehlivé stanovení patogenů chmele pomocí objektivních laboratorních diagnostických metod jako jsou ELISA, dot – blot a PCR. Jsou shrnuty praktické poznatky k hodnocení zdravotního stavu chmele.

## **2. Dedikace**

Projekt **TE02000177 "Centrum pro inovativní využití a posílení konkurenceschopnosti českých pivovarských surovin a výrobků,"** byl řešen s finanční podporou TA ČR.

Informace o poskytovateli jsou – Technologická agentura ČR – jsou dostupné na webové adrese <http://tacr.cz>.

## **3. Vlastní popis metodiky**

Dobrý zdravotní stav má rozhodující význam pro uplatnění produkčního potenciálu rostlin chmele. Rychlá a spolehlivá diagnostika virových a viroidních infekcí je nezbytná pro hodnocení zdravotního stavu. Existuje celá řada diagnostických metod k určení původce konkrétní choroby. V této metodice se chceme věnovat hodnocení zdravotního stavu na základě vizuálních příznaků, vyvolaných infikujícím patogenem a popisem diagnostických laboratorních metod jako je imunoenzymatická metoda ELISA pro stanovení virů a metoda dot-blot pro stanovení viroidů.

### **3. 1. Vizuální hodnocení**

Vizuální hodnocení je jedním z prvních metod hodnocení zdravotního stavu porostu chmele. Umožňuje označit a dále z porostu odstranit infikované rostliny a zabránit dalšímu šíření především infikovanou sadbou. Infikované rostliny jsou především rezervoárem původců infekce, tj. virů a viroidů, kteří v rostlině přežívají, množí se a jsou pomocí vektorů dále přenášeni na ostatní rostliny, a tak se infekce v porostu stále rozšiřuje. Nalezení a

odstranění infikovaných rostlin představuje rychlý a relativně levný léčebný zásah. Ačkoli se na první zdá, že tento způsob hodnocení jednoduchý, není tomu tak, naopak vyžaduje značnou zkušenost, ze strany hodnotitele. Výskyt symptomů totiž značně kolísá jak v průběhu vegetace, tak mezi ročníky. V důsledku extrémního průběhu počasí se symptomy infekce neprojeví, anebo se naopak mohou ve zvýšené míře projevit. Často také dochází k maskování příznaků, například kapičky herbicidu na listech mohou vytvářet obrazce podobné kreslené mosaice, viz obr. č. 1, nebo napadení sviluškou může připomínat anglickou mosaiku. Proto hodnocení klade na posuzovatele zvýšené nároky, a je vhodné před vlastním hodnocením provést školení ze strany zkušených pracovníků.

V minulosti byly na základě vizuálních symptomů popsána celá řada chorob virového původu (Blatný, Osvald) a na základě jejich projevů byl odvozen název chorob. Jejich výskyt byl dán původem pěstovaného chmele a způsobem rozmnožování sadby chmele. V době před 2. světovou válkou existovala vysoká a pestrá rozmanitost pěstovaného chmele v jednotlivých oblastech jeho pěstování, která se udržovala tím, že odběr a pěstování sadby si prováděli jednotliví pěstitelé sami ze svých chmelnic. To vedle udržování vysoké biodiversity mělo také za následek šíření chorob pomocí sadby do dalších nově vysazovaných chmelnic. Pěstování Osvaldových klonů do praxe, představovalo zavedení klonově rozmnožené sadby pouze z jedné vybrané rostliny, což na jedné straně znamenalo výrazné snížení rozmanitosti a současně vedlo ke zvýšení výnosu. Z hlediska zdravotního stavu to mělo za následek snížení výskytu vizuálně napadených rostlin z množené sadby. Vedle nově pěstovaných Osvaldových klonů ještě stále existovaly staré chmelnice, z kterých byla odebírána sadba. Proto bylo v padesátých letech minulého století zavedeno uznávací řízení matečných chmelnic, z kterých byla odebírána sadba pro množení. Prakticky to znamenalo soustavné ozdravování, protože sadba byla odebírána z chmelnic, které neobsahovaly viditelně napadené rostliny. Tím byla celá řada onemocnění prakticky zlikvidována a v porostech chmele zůstaly pouze rostliny, bez příznaků, vizuálně zdravé. Další eliminaci mosaikových chorob také přispěla koncentrace pěstování sadby pouze do několika specializovaných podniků.

Nové moderní a objektivní diagnostické metody, které byly vyvinuty, umožnily v praxi rychle a spolehlivě identifikovat původce chorob jako jsou viry a viroidy. Význam vizuálního hodnocení jako prvního orientačního hodnocení nadále zůstává a je důležitou složkou hodnocení zdravotního stavu chmele. Pomocí vizuálního hodnocení můžeme v porostu určit

kreslenou mosaiku, anglickou stříkanou mosaiku, zborcení listů, kopřivovitost chmele – chorobu nettleheat, napadení viroidem zakrslosti chmele (HSVd), viroidem praskání kůry citroníku (CBCVd).

### **3. 1. Choroby chmele virového původu**

Na základě sledování rozsáhlých sledování chmelových porostů a rostlin bylo na základě vizuální symptomů popsána celá řada chorob, ale postupně byla redukována na 4 virové choroby vesměs tzv. mozaikového typu (Kříž 1970), které mají největší hospodářský význam v našem chmelařství. Ostatní původně virové choroby se ukázaly buď jednotlivými stádii těchto mozaikových viróz, nebo vůbec virovými chorobami nebyly. Proto mezi virové choroby není řazena kadeřavost, protože je způsobena nedostatkem zinku v půdě a dále nakažlivá neplodnost, která je projevem genetické odchylky. Současný přehled virových patogenů chmele uvádí (Pethybridge 2008).

#### **3. 1.1. Kreslená mozaika chmele**

Poprvé příznaky choroby lze zaznamenat v již první polovině června, obvykle pouze na nejspodnějších pazochových listech. Střední patra listů bývají obvykle bez příznaků, jež se objevují až v době hlávkování a to na horních patrech rostliny. Choroba se projevuje světle zelenými kroužky na listech, vlnovkami nebo pásy nepravidelně na ploše listů rozdělenými, více či méně ohraničenými. Velice často se objevují pouze oválné skvrny.

#### **3. 1. 2. Zborcení listů**

Příznaky se objevují na révách již v květnu v podobě pásovitých nekrot, jež přechází na pazochy, řapíky a na žilky listů. Révy jsou křehké, snadno se lámou, listy jsou těžce deformovány a pěstovitě svinuty. Pletivo čepele je podle žilek světlejší, později hnědne a nekrotizuje. Vzrůst rostlin je slabší, jednotlivé nody v horních partiích rostliny jsou zkrácené, hlávky se tvoří v malém množství a jsou silně deformovány.

#### **3. 1. 3. Kopřivovitost chmele - Nettlehead**

Vznik choroby kopřivovitosti chmele „Nettlehead“ je vysvětlován jako komplexní choroba způsobená infekcí virem mozaiky chmele a viru nekrotické kroužkovitosti slivoně (Prunus necrotic ringspot virus – PNRSV).

Infekce se projevuje pomalým růstem zavedených výhonů, listy jsou světle žluté a otáčejí se lodičkovitě vzhůru. Listová čepel je křehká, se zřetelně vystouplými žilkami. Pazochy jsou krátké, vegetační vrchol často ztrácí schopnost vinutí. Pletivo spodních révových listů se trhá a pronikavě se snižuje výnos až o 60 %.

Tato choroba se v našich podmínkách vyskytovala ve šlechtitelském materiálu, kde matečnou rostlinou byla odrůda Northern Brewer, která je latentním nositelem anglické mozaiky a kreslené mozaiky.

### **3. 1. 4. Anglická mozaika chmele**

Příznaky této mozaiky vystupují v polovině června. Na listech dochází k prosvětlování žilek, jsou světlezeleně a žlutě kropenaté s okraji často zpět pěstovitě ohnutými. Réva je křehká, má zkrácené nody, vzrůst chmele je slabý, mnohdy rostliny nedorůstají chmelniční konstrukce. Vegetační vrchol se často odklání od vodiče, hlávky jsou vesměs zakrnělé a znetvořené. Odrůdy s červenou révou, zejména chmele žateckého typu, mívají příznaky mozaiky chmele velmi slabé. Počet rostlin se zřetelnými příznaky této choroby obvykle nepřesahoval 1 %. Je předpokládán její výskyt v latentním stavu. Projevy příznaků u chmele žateckého typu jsou odlišné než u náchylných odrůd.

### **3. 2. Diagnostika virových patogenů**

Neustálá kontrola zdravotního stavu je nezbytnou součástí udržovacího šlechtění, novošlechtění, hodnocení genofondu a produkčních ploch. Nezastupitelné místo má v ozdravovacím procesu, množitelském cyklu a při výrobě kvalitního sadbového materiálu. K prověření zdravotního stavu je nutno používat dostatečně spolehlivé a expeditivní metody. Vzájemná kombinace jednotlivých viróz, jejich společný výskyt i projevování vnějších příznaků na stejných rostlinách není vzácné. Tato skutečnost velmi ztěžuje většinu diagnostických metod, nejsou-li tímto často nepoužitelné. Skrytě nemocné rostliny nemohou být, proto při uznávacím řízení pomocí negativních výběrů odhalovány a zdroje infekce zůstávají v porostech.

#### **3. 2. 1. Metoda ELISA**



Metodu ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) poprvé aplikovali v rostlinné virologii (Voller et al., 1976, Clark, Adams 1977). Autoři vypracovali dvojistou sendvičovou metodu pro detekci rostlinných virů, která se s menšími modifikacemi používá dodnes. Těmito metodami lze prokázat virus přímo v infikovaném materiálu, viz obr. č. 2.

V praktické diagnostice metoda ELISA, představuje kvalitativně vyšší stupeň než ostatní metody a zaujímá dominantní postavení v diagnostice chorob virového původu. Detailní popis metody, pracovní postupy a uplatnění v diagnostice virů chmele uvádí Svoboda (2009 a). Aplikace imunoenzymatické metody ELISA v diagnostice virů chmele byla zaměřena na významné viry, které již byly u chmele prokázány. Jednalo se především o tyto viry: virus nekrotické kroužkovitosti třešně – Prunus necrotic ringspot virus PNRSV, virus mozaiky huseníku – Arabis mosaic virus ArMV, virus mozaiky jabloně - Apple mosaic virus – ApMV, virus mozaiky chmele – Hop mosaic virus – HpMV, latentní virus chmele – Hop latent virus – HpLV, americký latentní virus chmele – American hop latent virus – AmHLV a latentní virus kroužkovitosti jahodníku – Strawberry latent ringspot virus – SLRSV. V současné době jsou výsledky metody ELISA kontrolovány pomocí molekulárních metod na principu reakce PCR např. Petrzik, Svoboda (1997), viz obr. č. 3.

### **3. 2. 2 Diagnostika viroidů**

K detekci viroidů nelze využít imunoenzymatické metody, neboť viroidy jsou tvořeny pouze molekulou RNA bez proteinového pláště. Proto jsou využívány metody molekulární hybridizace (dot – blot), viz obr. č. 4 a reverzní transkripce RT – PCR, které umožňují spolehlivě diagnostikovat jednotlivé viroidy, jak uvádí Matoušek, Patzak (2000). Detailní popis metody, pracovní postupy a uplatnění v diagnostice virů chmele uvádí Svoboda (2009 b).

### **3. 3. Viry a viroidy**

#### **3. 3. 1. Virus mozaiky jabloně**

Virus mozaiky jabloně (Apple mosaic virus – ApMV) a jeho infekce je považován za nejvýznamnější virové onemocnění chmelu po celém světě. Původně se předpokládalo, že onemocnění bylo způsobeno buď virem mozaiky jabloně – ApMV nebo blízkým virem nekrotické kroužkovitosti slivoně (Prunus necrotic ringspot virus – PNRSV). Nedávné údaje dokládají, že všechny přírodní infekce chmele jsou způsobeny pouze virem mozaiky jabloně a

že dříve popsané izoláty Prunus necrotic ringspot virus v chmelových rostlinách byly genetickými variantami viru mosaiky jabloně. Infekce tímto virem snižuje schopnost množit chmel ze sádí a také snižuje úspěšnost při zakládání nových chmelnic.

### **Příznaky**

Virus mosaiky jabloně indukuje chlorotické kruhy nebo oblouky, které se mohou stát nekrotickými. Často se tyto spojují, aby se vytvořily vzory linií dubových listů na listech, viz obr. č. 5-6. Závažnost symptomů je dramaticky ovlivněna podmínkami prostředí. Silné příznaky se dramaticky ovlivňovány průběhem počasí. Jsou obvykle velmi silné, když po období studeného počasí následuje obdobím s vysokou teplotou, viz obr. č. 7.

Rostliny tak mohou být silně infikované, ale několik let bez viditelných příznaků, které se projeví až vlivem vhodných podmínek. Podle podmínek se stupeň symptomů projeví, a hlávky a alfa kyseliny mohou být redukovány do 50 %. Směsná infekce ApMV a HpMV zesiluje projevy infekce a stupeň škodlivosti.

### **Šíření**

Rozmnožování ApMV infikovaných rostlin je základní způsob šíření, zatímco mechanický přenos ve chmelnicích mezi kontakty mezi rostlinami a kořeny se uplatňuje v místním šíření viru. Jelikož se infekce ApMV neprojevuje každou vegetací, infikované rostliny mohou být vybrány neúmyslně pro odběr sadby a tak je virus rozšiřován do dalších chmelnic.

ApMV náleží k rodu, který může být šířen pylem, nebo semenem, ale tato způsob není průkazný pro ApMV. Stupeň vlastního šíření závisí na odrůdě, klimatických podmínkách a pěstitelské praxi na farmě. Není znám přenos hmyzem nebo svluškou. ApMV má široký okruh hostitelů, které zahrnují několik hlavních rostlinných čeledí, které zahrnuje jabloň, hrušeň a růži, ale nejsou žádné důkazy, že se virus přirozeně přenáší z jednoho druhu hostitele na druhý.

### **Opatření**

Výběr pro množení a vysazování certifikovaného sadbového materiálu bez ApMV jsou základní opatření omezení dalšího šíření. Rovněž použití kontaktních herbicidů k likvidaci nežádoucí vegetace ve chmelnici, nebo řezu, může snižovat mechanický přenos ApMV na sousední rostliny proti použití mechanizačních prostředků.

### 3. 3. 2. Skupina Carlavirus

Chmel infikují tři viry ze skupiny carlavirus: americký latentní virus chmele (American hop latent virus – AmHLV, latentní virus chmele (Hop latent virus – HpLV) a virus mozaiky chmele (Hop mosaic virus – HpMV). Je o nich známo, že se vyskytují ve směsných infekcích a vyskytují se po celém světě, kde se pěstuje chmel. Výjimkou je pouze americký latentní virus chmele, který se nachází především v Severní Americe.

#### Příznaky

Latentní virus chmele a americký latentní virus chmele nezpůsobují na infikovaných rostlinách běžně pěstovaných odrůd chmele žádné vizuální příznaky. Z těchto tří carlaviřů je nejvíce pravděpodobné, že virus mozaiky chmele způsobuje jak příznaky, tak poškození rostlin. U citlivých odrůdách vyvolává mezi hlavními listovými cévami chlorotickou mozaiku, viz obr. č. 8. Silně zasažené rostliny mohou po výsadbě špatně vzcházet, mají slabý růst a často padají z opory (chmelovodiče). Symptomy se objevují u odrůd typu Golding nebo ty, které mají Golding v rodokmenu. Některé kmeny viru mozaiky chmele způsobují infekce, které mohou být u rostlin odrůdy Golding být téměř bez symptomů.

Všechny carlavirusy redukovat růst, což se negativně projevuje při výsadbě nových chmelnic a snaze o dosažení optimálních výnosů co nejdříve po výsadbě. Výnos u infikovaných rostlin může být snížen o přibližně 15 %, ale citlivých odrůd na virus mozaiky chmele mohou ztráty dosáhnout až na 62 %. Změny v pivovarnických charakteristikách v případě infekce jsou nepatrné.

#### Šíření

Carlavirusy jsou přenášeny převážně mechanickým způsobem. Množení a distribuce infikované sadby je hlavním způsobem šíření. Předpokládá se, že kontakty mezi kořeny a mechanický přenos jsou způsobem šíření na krátké vzdálenosti. Carlavirusy jsou také přenášeny neperzistentním způsobem mšicemi. To znamená, že když se mšice nasají šťávu z infikované rostliny, mohou získaný virus okamžitě přenést na další hostitelskou rostlinu, na které dochází k sání. Přenos na další rostliny je velmi nízký, anebo k němu vůbec nedochází. Všechny tři carlavirusy jsou přenášeny chmelovou mšicí (*Phorodon humuli*). Virus mozaiky chmele a latentní virus chmele jsou také přenášeny mšicí bramborovou (*Macrosiphum euphorbiae*) a mšicí broskvoňovou (*Myzus persicae*).

Pro carlaviry je typické, že mají úzký okruh hostitelů, a proto jedinými hostiteli, kteří se pravděpodobně budou vyskytovat poblíž chmelnic, budou jiné rostliny chmele, zejména planý a zplanělý chmel. Pokud je přítomna virová infekce, může se v chmelnici v průběhu její životnosti nakazit značný počet rostlin.

### **Opatření**

Použití certifikované viru-prosté sadby je nejlepším způsobem, jak omezit virovou infekci a onemocnění. Postřik proti mšici je neúčinný proti přenesu viru, protože virus vzhledem k mechanismu jeho přenosu, může být přenesen ještě předtím, než jsou usmrceny virulentní mšice. Snížení populace mšic, ale může snížit rychlost sekundárního přenosu z rostliny na rostlinu ve chmelnici.

### **3. 3. 3. Viroid zakrslosti chmele (Hop stunt viroid – HSVd)**

Viroid zakrslosti chmele viroid způsobuje velmi vážné onemocnění pěstovaného chmele. Toto onemocnění se rozšířilo v padesátých a šedesátých letech minulého století po celém Japonsku. Jeho výskyt v USA byl potvrzen v roce 2004. Infekce byly hlášeny z oblastí pěstování chmele v Japonsku, Evropě a Severní Ameriky. Infekce tímto viroidem může snížit produkci alfa-kyselin o 60 až 80 %.

### **Příznaky**

Intenzita projevu příznaků způsobených tímto viroidem závisí na druhu chmele (odrůdě) a na počasí. Mimořádná závažnost tohoto viroidu je v tom, že první viditelné příznaky infekce tímto viroidem se mohou objevit za tři až pět vegetačních období, po počáteční infekci. Toto dlouhé latentní období před vznikem zřetelných symptomů často vede k odběru sadby, jejímu množení a tím dalšímu šíření viroidu infikovaným sadbovým materiálem. Růst infikovaných rostlin je opožděn, a listy jsou celkově bledé v porovnání se zdravými, viz obr. č. 9. Během aktivního růstu je délka internodií u infikovaných rév zkrácena až o dvě třetiny, ve srovnání se zdravou révou. Stupeň omezení růstu (krnění) je závislý na teplotě, se silnějším projevem v teplejších oblastech nebo sezónách. Při zrání dospělých révy je potlačován vývoj postranních pazochů, viz obr. č. 10. Hlávky nesené na řídkých a zkrácených bočních větvích jsou menší a jejich vývoj je zpožděn ve srovnání s hlávkami na zdravých rostlinách. Žloutnutí listů pokračuje v průběhu vegetace a pokračuje směrem

k révě. Reakce různých odrůd chmele na infekci není dobře známa, ale u některých citlivých odrůd se podél hlavních listových žil objevují žluté skvrny, viz obr. č. 11. To však může být výsledkem směsné infekce viroidu zakrslosti chmele a některého z carlavirů, a to virem mosaiky chmele (HpMV) nebo latentním virem chmele (HpLV).

### Šíření

Zatím je známo šíření tohoto viroidu prostřednictvím infikovaných rostlin a mechanický přenos. Neexistují žádné důkazy o tom, že tento viroid je přenášen prostřednictvím semen chmele nebo prostřednictvím hmyzího přenašeče. Infekce viroidem zakrslosti chmele má větší tendenci pohybovat se po řadách spíše než přes řádky, což naznačuje, že přenos z révy na révu v místech kde se dotýkají, nebo jsou na jednom vodiči, není neefektivní. Vzhledem k šíření po řádku, sledování ukazují, že zemědělské operace jsou primárním způsobem přenosu viroidů, jakmile dojde k infekci rostlin. Hop stunt viroid je snadno přenášen vlastními pracovníky, reznými nástroji a nástroji a zařízením během kultivačních operací, jako je řez chmele a mechanické odstraňování listů. Mechanický přenos se pravděpodobně nejčastěji vyskytuje na jaře, kdy je tlak šťávy v rostlinách je vysoký a kontaminovaná šťáva je potom vytlačována z řezných ran nebo poškozených povrchů a je schopná kontaminovat poškozená místa na dalších rostlinách. Viroid zakrslosti chmele může zůstat v infekční podobě v suchých rostlinných zbytcích na poli po dobu tří měsíců, ale není známo, jak tato skutečnost přispívá k přenosu viroidu.

### Opatření

Vzhledem k tomu, že hlavním známým způsobem jeho šíření je používání infikované sadby, osivového materiálu osvědčeného bez tohoto patogenu nejlepším prostředkem k omezení jeho distribuce. Viroid zakrslosti chmele se šíří požívaným nářadím pro kultivaci a také kontakty kořenového systému. Pokud je infikované malý počet rostlin, je třeba rychle napadené rostliny odstranit, přičemž je třeba dbát na důkladné a úplné odstranění všech částí kořenového systému. Vzhledem k době latence, se lehce může stát že, po odstranění rostlin s viditelnými příznaky, zůstávají dále v porostu rostliny, které jsou rovněž infikované, ale zatím nedošlo rozvoji příznaků typických pro infekci. Rovněž několik rostlin, bezprostředně sousedících s rostlinami s příznaky by mělo být odstraněno. Pokud to místní podmínky dovolí, rostliny, určené k odstranění, by měly být ošetřeny v pozdním létě

systémovým herbicidem, který ničí kořeny a tak zabránit dalšímu šíření viroidu v porostu. Pokud je to možné, plochy s infikovanými rostlinami, by měly ponechány jako úhor na jednu sezónu, a tak přežívající podzemní části chmelových babek vytvoří výhonky, které mohou být zničeny herbicidem. Fumigace půdy může být také užitečná pro ničení infikovaných podzemních částí, které zůstávají v půdě, pokud jsou postiženy větší plochy. Měla by se používat preventivní opatření k omezení šíření v chmelovém porostu a mezi chmelnicemi. Tam kde je to možné, je doporučováno pro jarní řez použít kontaktní herbicid než používat mechanické nářadí, kterým se může viroid přenášet. Podobně použití herbicidů k odstranění nežádoucí vegetace ve chmelnic v průběhu sezóny je vhodnější než mechanizačními prostředky a také snižuje riziko přenosu. Důkladné omývání použitých zemědělských mechanizačních zařízení k odstranění zbytků rostlin a šťávy z rostlin, může snížit pravděpodobnost přenosu do nových polí. Ošetření nožů a řezných nástrojů a ploch dezinfekčním roztokem po dobu 10 minut může snížit riziko přenosu. Bylo vyzkoušeno mnoho výrobků včetně přípravků na chemické bělení, jako jsou (chlornan sodný, chlornan vápenatý a peroxid vodíku), ale výsledky nejsou jednoznačné.

### **3. 3. 4. Další viry a viroidy**

Jsou známy další viry a viroidy, které se vyskytují na chmelu, nepředstavují vážné nebezpečí, a proto nejsou nijak regulovány. Pěstitelé by však měli být pozorní a sledovat podle příznaků, zda nedošlo k výskytu některého z těchto patogenů.

#### **3. 3. 4. 1. Viroid vrásčitosti plodu jabloně (Apple fruit crinkle viroid – AFCVd)**

Viroid vrásčitosti plodu jabloně byl prvně objeven v Japonsku v roce 2004 v chmelu. O tomto viroidu je k dispozici velmi málo informací, zatím nebyl potvrzen výskyt s Severní Americe, ani u chmele, ani ovocných hostitelů. Vyvolává podobné symptomy jako viroid zakrslosti chmele (HSVd) a příslušná kontrolní opatření jsou také podobná (viz Hop stunt viroid).

#### **3. 3. 4. 2. Viroid praskání kůry citroníku (Citrus bark cracking viroid – CBCVd)**

Tento viroid byl zjištěn v roce 2007 a potvrzen jako původce závažného onemocnění chmele ve Slovinsku. Tento viroid je známý jako minoritní patogen citrusů ve Spojených státech od roku 1988 a byl identifikován v rostlinách citrusů v mnoha zemích. V současné době je ohnisko ve Slovinsku jediným známým výskytem u chmelu. Příznaky jsou popsány jako podobné jako příznaky vyvolané infekcí viroidem zakrslosti chmele – HSVd vyvolané na nejcitlivějších odrůdách chmele. Viroid praskání kůry citroníku se snadno přenáší pomocí šťávy fyzickým kontaktem s infikovanými rostlinami nebo kontaminovaným kultivačním nářadím a také přímo vlastními pracovníky. Ve Slovinsku se u chmele tento viroid rozšiřoval velmi rychle. Všechna doporučená opatření používaná pro kontrolu řízení viroidu zakrslosti chmele jsou použitelná pro viroid praskání kůry citroníku.

### **3. 3. 4. 3. Latentní viroid chmele (Hop latent viroid – HLVD)**

Skupina, do které náleží Viroid zakrslosti chmele, zahrnuje také Latentní viroid chmele – HLVD. Přítomnost tohoto viroidu byla potvrzena ve většině oblastí pěstujících chmel po celém světě, včetně USA kdekoli je známo, že se vyskytuje, je široce distribuován. Latentní viroid chmele má velmi omezený rozsah přirozených hostitelů, takže primárním zdrojem nových infekcí je použití infikovaného rozmnožovacího materiálu nebo mechanického přenosu z jiných rostlin. Infekce způsobená latentním viroidem chmele nevyvolává u většiny odrůd žádné zjevné symptomy, ale může u některých odrůd, snížit produkci alfa-kyselin až o 20 %, jak bylo zjištěno. Americká odrůda Omega je citlivá na HLVD a infikované rostliny této odrůdy projevují zřetelné příznaky včetně obecné chlorózy, špatného růstu a zpomaleného vývoje pazochů. Celková produkce alfa-kyselin v infikovaných rostlinách odrůdy Omega může být snížena o 50 až 60 %. Vlastní přenos a šíření tohoto viroidu nejsou zcela jasné. Například není znám, žádný hmyzí přenašeč, a přitom v porostech dochází k velmi rychlé infekci. Opatření kontrolní opatření na pěstování chmel bez viroidů, to znamená provádět výsadbu z ozdravené sadby, pokud možno mimo staré infikované porosty, které slouží jako

### **3. 3. 4. 4. Ostatní viry**

Kromě těchto virů bylo na chmelu zjištěno několik dalších, hospodářsky méně významných virů, jejichž přehled uvádí tabulka č. 1. Na českém chmelu byl identifikován: latentní virus chmele – HpLV, virus mozaiky chmele HpMV, virus mozaiky vojtěšky AIMV, virus mozaiky okurky CuMV, virus nekrózy tabáku TNV a virus svinutky třešně CLRV.

Tabulka č. 1: Přehled virů doposud popsáných u chmele

<b>Virus</b>	<b>Literatura *</b>
Skupina Carlavirus Virus mozaiky chmele (HpMV)	Salmon 1923 Adams, Barbara 1980
Latentní virus chmele (HpLV)	Schmidt et al. 1966 Probasco, Skotland 1978 Adams, Barbara 1982
Americký latentní virus (AmHLV)	Probasco, Skotland 1976 Adams, Barbara 1982
Skupina Ilarvirus Virus nekrotické kroužkovitosti třešně (PNRSV)	Fridlund 1959 Legg 1964, Schmidt 1963
Virus mozaiky jabloně (ApMV) - kmeny A, I Virus japonského chmele (HJV)+	Bock 1966, 1967 Barbara et al. 1978 Adams, Barbara 1987
Skupina Nepovirus Virus mozaiky huseníku (ArMV)	Bock 1966
Virus latentní kroužkovitosti jahodníku (SLRV)	Polák et al. 1989
Virus svinutky třešně (CLRV)	Clark 1975
Virus kroužkovitosti tabáku (TobRV)	Schmidt 1969
Skupina Cucumovirus Virus mozaiky okurky (CuMV)	Bock 1966 Macovei 1989 Smidt, Karl 1968
Skupina Tombusvirus (ToBSV)	Novák, Lanzová 1976
Skupina viru nekrózy tabáku Virus nekrózy tabáku (TNV)	Albrechtová et al. 1979
Skupina viru mozaiky vojtěšky Virus mozaiky vojtěšky (AIMV)	Novák, Lanzová 1976
Neurčené viry Chmelový virus H – 246	Macovei 1979 Eppler 1989



Chmelový virus H – 176	
------------------------	--

Poznámka k tabulce:

+ nalezeno na *Humulus scandens* L. = *Humulus japonicus* L.

\* literatura uložena u autora

#### 4. Základní opatření proti šíření virů a viroidů

Návrh možné ochrany chmele proti virovým chorobám byl podrobně popsán Svoboda (2009) zde chceme připomenout hlavní zásady. Přímé metody založené na použití chemické ochrany proti virům a viroidům nelze použít. V preventivních opatřeních se uplatňují nepřímé metody zaměřené proti šíření přenašečů a rezervoárů virů v okolí chmelnic, na dodržování izolačních vzdáleností, správných agrotechnických zásad a používání ozdravené sadby. Při dodržování těchto doporučení je možné škody u chmele minimalizovat.

Plevelé a plevelné druhy rostlin jsou významným primárním zdrojem infekce a přenašečů virů. Porosty chmele je udržovat čisté od přezimujících a víceletých plevelů, a to nejen přímo ve chmelnicích, ale také v jejich okolí. Nelze také zapomínat na likvidaci zplanělého a planého chmele v okolí chmelnic, likvidaci samčích rostlin chmele.

Výskytu mšice je třeba věnovat náležitou pozornost, protože je přenašečem carlavirů. Uvedené carlaviry (HpMV a HpLV) se šíří mšicemi neperzistentním způsobem a po akvizičním sání jsou mšice schopné přenášet virus na další rostliny. Proto je třeba věnovat značnou pozornost ochraně proti mšici chmelové, a to jako škůdci, tak přenašeči carlavirů a důsledně dodržovat předepsanou metodiku ochrany chmele.

Izolační vzdálenosti a střídání pozemků, jsou účinné způsoby ochrany, které vzhledem k trvalému charakteru pěstování chmele na jednom pozemku ve chmelařských oblastech lze jen obtížně uskutečňovat. Obecně je vhodné umístit nové výsadby z ozdravené sadby nejdále od infikované výsadby a vyvarovat se provádění tzv. rychloobnovy, kdy je starý porost chmele v konstrukci zlikvidován a ihned je provedena výsadba nového porostu a není dodrženo alespoň 2leté přerušení, odpočinutí a vyčistění půdy.

Mechanický přenos, kterým je uskutečňován přenos mozaiky jabloně (ApMV), lze ovlivnit způsobem uplatňované agrotechniky. Jednotlivé operace by měly být prováděna šetrně, tak aby nedocházelo ke zbytečnému poškozování rostlin. Řez chmele, kdy se ApMV může šířit mechanicky surovou rostlinnou šťávou z poraněných pletiv infikovaných rostlin na ostatní je nejvýznamnější operací. V zemích, kde se řez chmele neprovádí, jako je Anglie,

nebo provádí chemicky, dochází k nižšímu šíření jak virů, tak viroidů. Vhodné je provádět řez nejprve u chmelnic vysázených z ozdravené sadby a potom řez běžných chmelnic. Dále se doporučuje desinfekce řezných ploch náradí a nástrojů roztokem přípravku Virkon (1% roztok) nebo přípravku Savo (10% roztok).

Správnou výživou lze podpořit dobrý růst a vývoj a je tak možné snížit negativní dopady infekce.

Rezistentní odrůd představují nejúčinnějším opatřením proti virovým a viroidním infekcím. U chmele však takové odrůdy zatím nejsou. Nové odrůdy chmele jsou v důsledku křížení na počátku své existence prakticky zdravé. Současně vzhledem rychlosti obměny pěstovaných odrůd, dochází ke zkracování doby působení infekčního tlaku, a tím také možnosti vzniku reinfekce.

Důsledné využívání ozdraveného sadbového materiálu chmele při zakládání všech chmelnic, náleží k velmi důležitému opatření, které zlepšuje celkový zdravotní stav porostů. Ozdravený sadbový materiál je produkován autorizovanými producenty a jak výchozí materiál, tak produkováná sadba jsou pod soustavnou kontrolou zdravotního stavu metodou ELISA (Svoboda 2007) nebo molekulární metodou (Petrzik, Svoboda 1997). Ozdravení je prováděno meristémových kultur *in vitro* a termoterapie. Každoročně je na základě požadavků chmelařů připravena zdravá sadba, dopěstovaná do výsadbové velikosti v kořenáčových školkách.

## 5. Srovnání novosti postupů

Komplexně zpracovaná metodika věnovaná hodnocení zdravotního stavu po infekci a viry a viroidy nebyla publikována. Na základě dlouhodobého soustavného výzkumu a zahraničních zkušeností a poznatků uvádí dostupné metody, jejich popis a uplatnění. Předložená metodika se zabývá nejdůležitějšími metodickými kroky a uvádí návrh možných ochranných opatření k zabránění šíření či zpomalení šíření jednotlivých patogenů, případně preventivních opatření, které vedou ke snížení způsobených škod.

Předložená metodika se zabývá nejdůležitějšími fázemi hodnocení zdravotního stavu, vizuálními příznaky, které poskytují první rychlou informaci a stavu hodnocených rostlin, kterou je možné potvrdit pomocí laboratorních diagnostických metod. Následné uplatnění moderních diagnostických metod jako jsou imunoenzymatické (ELISA) a molekulárních (PCR) představuje velkou perspektivu pro efektivní posouzení zdravotního stavu.

## **6. Popis uplatnění metodiky**

Dobrý zdravotní stav je předpokladem úspěšného pěstování chmele. Na základě domácích a zahraničních poznatků byla připravena tato metodika (manuál) pro rychlé posouzení zdravotního stavu chmele. 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 Ústředního a kontrolního ústavu zemědělského a další pracovníky z oblasti státní správy, pedagogy a studenty vysokých a středních škol, výzkumné pracovníky, obchodníky s chmelem, výrobci a distributoři 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](http://www.chizatec.cz).

## **7. Ekonomické aspekty**

### **7.1. Náklady na zavedení uvedených postupů**

Vlastní zavedení metodiky do praxe nepředstavuje investiční náklady, protože laboratorní diagnostické zázemí je již vybudované a je plně funkční.

Metodika je koncipována tak, aby byla technicky co nejjednodušší, a přitom poskytovala spolehlivé a opakovatelné výsledky, je zde spojena ekonomickou nenáročností a maximální informativností. Přímé použití chemické ochrany proti virům a viroidům není možné. Proto je velký důraz kladen na uplatnění včasného zjištění infekce na základě vizuálních příznaků a nepřímých metod zaměřených proti šíření přenašečů a rezervoárů virů v okolí chmelnic, na dodržování izolačních vzdáleností, správných agrotechnických zásad a používání ozdravené sadby. Při dodržování uvedených doporučení je možné škody u chmele minimalizovat. Důležitým aspektem je i to, že metodika v této podobě přináší ucelený soubor informací a postupů, a uživatel uspoří náklady na vývoj vlastní metodiky, což představuje nároky na finance, práci i čas.

### **7.2. Předpokládané ekonomické přínosy pro uživatele**

Dosažené ekonomické přínosy na základě dobrého zdravotního stavu jsou značné. Pokud bereme na zřetel výsledky předchozího výzkumu, předpokládáme, že v našich podmínkách, škody na výnosu mohou dosáhnout 10–20 % a ztráty na obsahu alfa hořkých kyselin jako pivovarnicky nejdůležitější komponenty chmelové hlávky pro výrobu piva mohou být 10–30 %.

Uplatněním ozdravených sadbových materiálů při zakládání nových chmelnic, což je nejčastěji navrhované opatření k omezení šíření virů a viroidů v porostech lze kalkulovat se zvýšením výnosu o 10 %, pak se jedná o finanční přínos, který lze vyčíslit při průměrné ceně 300 tis. Kč/t chmele a zvýšením výnosu o 0,1 t/ha částkou 30 tis. Kč/ha, což na ploše, která se průměrně v posledních letech průměrně vysazuje, tj. cca 250 ha znamená ekonomický přínos cca 7 mil. Kč ročně. Dalším efektem je zvýšený obsah pivovarsky účinných látek, což se pozitivně projevuje ve vyšší kvalitě chmele a jeho vyšší realizační ceně, zejména v klimaticky nepříznivých sklizňových ročnících, kdy je chmele s dobrou úrovní pivovarsky účinných látek obecně nedostatek. Využívání kvalitní a zdravé sadby s vysokou biologickou hodnotou je výchozím předpokladem pro rentabilní pěstování chmele.

#### **Poděkování:**

Autor děkuje Bc. Ing. Ivaně Malířové za výbornou technickou pomoc.

#### **8. Seznam použité literatury:**

1. Clark, M. F., Adams, A. N., 1977: Characteristic of microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. In: J. genet. virol., vol 34, 1977, pp. 474–483
2. Kříž, J., 1970: Soustavný výzkum viróz chmele a možnosti boje proti nim. Závěrečná zpráva VÚCH Žatec
3. Kříž J., Fencel J. 1980. Diagnostika virových chorob chmele. Závěrečná zpráva VÚCH Žatec 49 s.
5. Pethybridge, S. J., Hay, F. S., Barbara, D. J., Eastwell, K. C., Wilson, C. R. 2008: Viruses and Viroid Infected Hop: Epidemiology and Management. In: Plant Diseases vol. 92, 2008, N. 3, pp. 324–338
5. Voller, A., Bartvertt, A., Bidwell, D. E., Clark M. F., Adams A. N. 1976: The detection of viruses by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). J. gen. Virol. 33, 165–167

**9. Seznam publikací, které předcházely metodice:**

1. Matoušek, J., Patzak, J., 2000: A low transmissibility of hop latent viroid through a generative phase of *Humulus lupulus* L. *Biologia Plantarum* 43: 145–148,
2. Petrzik, K., Svoboda, P., 1997: Screening of Apple mosaic virus in hop cultivars in the Czech republic by reverse transcription – polymerase chain reaction. *Acta virologica* 41, 1997: 101–103
3. Svoboda, P., 2007: Hodnocení zdravotního stavu sadby chmele, *Chmelařská ročenka 2007*, 62–67
4. Svoboda, P. 2009 a: Metodika diagnostiky virů chmele a ochrana proti virovým chorobám, ISBN 978-80-87357, str. 4-24, certifikovaná metodika, 3/2009
5. Svoboda, P., Patzak, J., Matoušek, J.. 2009 b: Metodika diagnostiky latentního viroidu chmele-HLVd (Hop Latent Viroid), ISBN: 978-80-87357-02-6, str. 4-31, certifikovaná metodika, 4/2009