

VĚDECKÝ
ČASOPIS

SBORNÍK ÚVTIZ



Ochrana rostlin

14

1

ROČNÍK 24 (LXI)
PRAHA
ÚNOR 1988
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0036-5394

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Řídí redakční rada: prof. ing. Zdeněk Čača, DrSc. (předseda), prof. ing. Jaroslav Bartoš, CSc., ing. Jaroslav Benada, CSc., doc. ing. Vít Bojňanský, DrSc., ing. Stanislav Gahér, CSc., doc. RNDr. Ivan Hrdý, DrSc., ing. Ján Jasič, DrSc., ing. Josef Klumpar, CSc., prof. ing. Václav Kohout, DrSc., ing. Eva Kováčiková, CSc., doc. RNDr. Bohumír A. Kvičala, DrSc., ing. Cyprián Paulech, CSc., RNDr. Zdenko Polák, CSc., ing. Vladimír Řehák, CSc., doc. ing. Vladimír Tábořský, CSc., ing. Dáša Veselý, DrSc., dr. ing. Vladimír Zacha, CSc.

Za vedení časopisu odpovídá ing. František Mareček, člen korespondent ČSAV

Redaktorka RNDr. Marcela Braunová

OBSAH

Polák Z.: Další spontánní hostitelé viru nekrotické kadeřavosti tabáku . . .	1
Polák Z., Procházková Z.: Carlavirus bezu černého a virus mozaiky okurky a virus mozaiky huseníku v bezu černém, <i>Sambucus nigra</i> L.	5
Polák J., Žák P., Jokeš M.: Purifikace viru, příprava specifických protilátek a diagnóza viru svinutky bramboru protilátkami konjugovanými křenovou peroxidázou	9
Váňová M., Benada J.: Účinnost fungicidů proti braničnatce plevové [<i>Septoria nodorum</i> (Berk.) Berk.] a listovým chorobám v pšenici ozimé	19
Brillová D.: Populácie cercospóry repovej (<i>Cercospora beticola</i> Sacc.) na Slovensku	29
Hrubý R., Čača Z.: Ověření metody krátkodobé prognózy plísňe bramborové [<i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) de Bary]	39
Potoček J., Brož J.: Nový systém testování rezistence bramborů proti rakovině bramborů (<i>Synchytrium endobioticum</i>) a hádátku bramborovému (<i>Globodera rostochinensis</i>)	47
Buryšková L.: Vliv reziduí vybraných herbicidů v půdě na následné plodiny	57

KRÁTKÁ SDĚLENÍ

Zacha V., Braslavská O.: K výskytu houby <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz na některých skleníkových rostlinách	71
Longauerová J.: Odolnost hybridů kukurice proti vijačce kukuričnej, <i>Ostrinia nubilalis</i> (Hübner)	72

AKTUALITY

Polák J., Chod J.: Konzervace rostlinných virů a československé banky rostlinných virů a protilátek	76
---	----

ŽIVOTNÍ JUBILEA

Váňová M.: Ing. dr. Jaroslav Benada, CSc., šedesátníkem	79
---	----

СОДЕРЖАНИЕ

Полак З.: Остальные спонтанные растения — хозяева вируса курчавой полосатости табака	3
Полак З., Прохазкова З.: Карлавирус бузины черной, вирус огуречной мозаики и вирус мозаики резухи в бузине черной, <i>Sambucus nigra</i> L.	8
Полак Я., Жак П., Йокеш М.: Очистка вируса, приготовление специфических антител и диагностика вируса скручивания листьев картофеля антителами конъюгированными хреновой пероксидазой	18

DALŠÍ SPONTÁNNÍ HOSTITELÉ VIRU NEKROTICKÉ KADEŘAVOSTI TABÁKU

Z. Polák

POLÁK, Z. (Ústav experimentální botaniky ČSAV, Praha): *Další spontánní hostitelé viru nekrotické kadeřavosti tabáku*. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1): 1-4.

Virus nekrotické kadeřavosti tabáku byl prokázán v kořenovém systému čtyř vytrvalých planě rostoucích druhů se širokou ekologickou amplitudou: pelyňku černobýlu, *Artemisia vulgaris* L.; slézu přehlíženém, *Malva neglecta* Wallr.; štovíku tupolistém, *Rumex obtusifolius* L. a podbělu obecném, *Tussilago farfara* L.

virus nekrotické kadeřavosti tabáku; *Artemisia vulgaris* L.; *Malva neglecta* Wallr.; *Rumex obtusifolius* L.; *Tussilago farfara* L.

Virus nekrotické kadeřavosti tabáku — tobacco rattle virus (TRV), je významným virem způsobujícím korkovou kroužkovitost a skvrnitost stonku u bramboru. Uplatňuje se i u dalších plodin, především u některých okrasných rostlin, u kterých se stal závažným faktorem produkce (např. některé cibulovité květiny, gladioly aj.).

Harrison a Robinson (1978) považují TRV za virus především planě rostoucích rostlin, který infikuje kulturní rostliny tam, kde došlo k jeho výskytu na planých rostlinách. Pro nízkou mobilitu jeho přenašečů — nematodů čeledě *Trichodoridae* má pro šíření význam přenos zamořené půdy, případně přenos semenem planě rostoucích hostitelů (Lister, Murant, 1967).

Na území našeho státu spontánní výskyt TRV poprvé zaznamenal Polák (1967) na planě rostoucích rostlinách (*Plantago major* L. a *P. lanceolata* L.) a Mokrá (1967) na okrasných rostlinách. Výskyt TRV byl pak sledován sporadicky, jak vyplývá z ojedinělých zpráv (Polák et al., 1968; Polák, Chlumská, 1980; Polák, Procházková, 1985). Izoláty TRV tvoří dvě hlavní skupiny typů (Cadman, Harrison, 1959; Gibbs, Harrison, 1964). Do první skupiny nazvané M patří kompletní izoláty relativně stabilní a snadno mechanicky přenosné. Do druhé skupiny NM patří defektní izoláty, které jsou ve štáve nestabilní, odlišují se v reakcích diferenčních hostitelů, obtížnou mechanickou přenosností, ale také tím, že je nelze dokázat antiséry proti stabilní formě TRV. Nestabilní formy se však projevují na rostlinách stálými příznaky na rozdíl od izolátů M, které se projevují příznakově nezřetelně.

Hojnější výskyt TRV může souviset úzce i s problematikou současného stavu chorob bramboru projevujících se změnami na hlízách bramboru, které jsou v poslední době intenzivně studovány (Novák et al., 1983, 1986) a které negativně ovlivňují konzumní kvalitu bramboru.

V souvislosti s průzkumem zdravotního stavu ruderalních společenstev na území Velké Prahy a v kladenské oblasti byl TRV izolován celkem ze čtyř ruderalních druhů rostlin: z pelyňku černobýlu, *Artemisia vulgaris* L., s více či méně deformovanými listovými čepelemi a celkovou zakrslostí rostlin, který byl zjištěn na třech lokalitách na Kladně (Čimr-

anském, Bresonu a Vrapici]; slézu přehlíženého, *Malva neglecta* Wallr., s nepravidelnými chlorózami podél hlavní nervatury, zjištěného v Praze 6 — Suchdole, Na Výhledech; šťovíku tupolistého, *Rumex obtusifolius* L., odebraného v blízkosti čistící stanice na Kladně-Vrapici a v Buštěhradu, s příznaky tmavě zelených nepravidelných skvrn na listech a z podbělu obecného, *Tussilago farfara* L., s příznaky světle zelených skvrn na listech, rostoucího na drážním tělese tratě do Kralup nad Vltavou v prostoru Stromovky v Praze.

MATERIÁL A METODY

Identifikace TRV byla provedena na základě reakcí indikátorových rostlin s ohledem na výsledky, které uvedl Schmelzer (1957). Přenosy surovou infekcí štávu byly provedeny na *Nicotiana tabacum* cv. Samsun. Z tohoto druhu byly dále přenášeny na *N. glutinosa* L., *N. clevelandii* Gray a *Chenopodium quinoa* Willd.

Pro elektronomikroskopické zobrazení virionů byly provedeny purifikace izolátů (Locatelli, Allena, 1979). Preparáty kontrastované 1% octanem uranuly byly porovnávány s kontrolním izolátem TRV z Ústavu okrasných rostlin v Lisse, Nizozemí.

Sérodiagnostické vyšetření jsme provedli testem dvojité difúze v agaru s antigeny purifikovanými srážením PEGem (m. h. 6000) a s antisérem od dr. D. Z. Maata z Fytopatologického ústavu ve Wageningen, Nizozemí, v úpravě popsané v předchozí práci (Polák, Procházková, 1985).

Termální inaktivační bod byl stanoven v surové infekční šťávě z tabáku odrůdy 'Samsun' ředěné v poměru 1 : 1 0,01M fosfátovým pufrům.

Ve všech případech byl TRV přenášen z homogenátů kořenů bez ohledu na příznaky na listech, z nichž homogenáty nebyly infekční.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Ve všech případech vyvolaly izoláty na *N. tabacum* cv. Samsun tvorbu lokálních nekrotických lézí a skvrn různých velikostí, systémová infekce se projevila slabou mozaikou provázenou různě velkými nekrózami, „dubovými“ kresbami, zkracováním internodií a tvorbou nekrotických stonců.

Na *N. glutinosa* provázely mozaiku drobné nekrotické skvrny a deformace listů, na *N. clevelandii* vznikly drobné nekrotické léze a systémová deformace listů, na *C. quinoa* lokální nekrotické léze.

V preparátech připravených z jednotlivých hostitelských druhů byly elektronomikroskopicky zjištěny také tyčinkovité částice se dvěma délkovými maximy (190 nm a 60–80 nm), typické pro TRV.

V testu dvojité difúze v agaru se vytvořily velmi dobře patrné specifické precipitační linie jak s antigeny z vyšetřovaných rostlin, tak s kontrolním kmenem TRV.

K termální inaktivaci došlo ve všech případech v rozmezí teplot 80 až 85 °C.

Byly tedy podány důkazy o identitě izolátů z *A. vulgaris*, *M. neglecta*, *R. obtusifolius* a *T. farfara* s TRV. Tyto vesměs vytrvalé rostlinné druhy jsou novými spontánními hostiteli TRV, které dříve popsal Schmelzer (1955, 1957) jako rostliny vnímavé k umělé infekci TRV.

Zjištění dalších nových spontánních hostitelů TRV ukazují na to, že je tento virus zřejmě daleko více rozšířen v agroekosystému, než se dosud soudilo.

Vzhledem k tomu, že se některé kmeny TRV dají obtížně přenášet z rostlin bramboru na indikátorové rostliny (Van Hoof, 1964) a nejsou spolehlivě prokazatelné metodou ELISA (Weidemann, 1984), nemůžeme vyloučit, že TRV je jedním z významných příčinných agens změn na hlízách bramboru, vyvolávajícím podobně jako mop-top virus bramboru, korkovitou kroužkovitost hlíz (spraing).

Literatura

- CADMAN, C. H. — HARRISON, B. D.: Studies on the properties of soil-borne viruses of the tobacco-rattle type occurring in Scotland. *Ann. appl. Biol.*, 47, 1959, s. 542-556.
- GIBBS, A. J. — HARRISON, B. D.: A form of pea early-browning virus found in Britain. *Ann. appl. Biol.*, 54, 1964, s. 1-11.
- HARRISON, B. D. — ROBINSON, D. J.: The Tobraviruses. *Adv. Virus Res.*, 23, 1978, s. 25-77.
- LISTER, R. M. — MURANT, A. F.: Seed transmission of nematode-borne viruses. *Ann. appl. Biol.*, 59, 1967, s. 49-62.
- LOCATELLI, E. A. — ALLEN, T. C.: Effects of electron microscope preparatory techniques on lengths of tobacco rattle virus. *Phytopathol. Z.*, 96, 1979, s. 273-276.
- MOKRÁ, V.: The occurrence of an agent resembling the tobacco rattle virus found on some ornamental plants in Czechoslovakia. In: *Plant Virology, Proc. 6th Conf. Czechoslov. Pl. Virol.*, Olomouc, 1967, s. 181-191.
- NOVÁK, J. B. — RASOCHA, V. — LANZOVÁ, J.: Důkaz viru mop-top bramboru v Československu. *Sbor. ÚVTIZ - Ochr. Rostl.*, 19, 1983, č. 3, s. 161-167.
- NOVÁK, J. B. — RASOCHA, V. — LANZOVÁ, J.: Neznámá choroba bramboru — zdůvěřá kroužkovitost hlíz a její pravděpodobné etiologie. *Sbor. ÚVTIZ - Ochr. Rostl.*, 22, 1986, č. 2, s. 1-9.
- POLÁK, Z.: Some further studies on natural occurring viruses in Czechoslovakia. *Meded. Rijksfac. Landb.-Wet. Gent*, 32, 1967, č. 3-4, s. 922-926.
- POLÁK, Z. — CHLUMSKÁ, J.: The epiphytological significance of *Erigeron canadense* L. In: *Proc. VIIIth Czechoslov. Pl. Protect. Conf. Prague, Sept. 1980*, s. 131-132.
- POLÁK, Z. — PROCHÁZKOVÁ, Z.: Některé vlastnosti dvou izolátů viru nekrotické kadeřavosti tabáku. *Sbor. ÚVTIZ - Ochr. Rostl.*, 21, 1985, č. 3, s. 167-171.
- POLÁK, Z. — KRÁLÍK, O. — ČECH, M.: A virus of tobacco rattle group naturally occurring in *Plantago* sp. in Czechoslovakia. *Biol. Plant. (Praha)*, 10, 1968, č. 1, s. 31-36.
- SCHMELZER, K.: Zur Kenntnis des Wirtspflanzenkreis des Tabak-mauche-Virus. *Naturwissenschaften*, 42, 1955, č. 20, s. 564-565.
- SCHMELZER, K.: Untersuchungen über den Wirtspflanzenkreis des Tabak-mauche-Virus. *Phytopathol. Z.*, 30, 1957, s. 281-314.
- VAN HOOFF, H. A.: Het tijdstip van infectie en veranderingen in de concentratie van ratelvirus (kringerigheid) in de sardappelknol. *Medd. Landb.-Hogesch. Opzoek.* — *Stat. St. Gent*, 29, 1964, s. 944-955. (lit.: NOVÁK et al., 1986)
- WEIDEMANN, H. L.: Zum Nachweis des Tabak-rattle-Virus in Kartoffeln. *Potato Res.*, 27, 1984, s. 261-269.

Došlo dne 13. 7. 1987

ПОЛАК, З. (Институт экспериментальной ботаники ЧСАН, Прага): Остальные спонтанные растения — хозяева вируса курчавой полосатости табака. *Ochr. Rostl.*, 24, 1988 (1) : 1-4.

Вирус курчавой полосатости табака был доказан в корневой системе четырех стойких дикорастущих сортов с широкой экологической амплитудой: нервоше чернобыльника, *Artemisia vulgaris* L., мальве незамеченной, *Malva neglecta* Wallr.; щавеле туполистном, *Rumex obtusifolius* L. и мать-и-мачехе *Tussilago farfara* L.

вирус курчавой полосатости табака; *Artemisia vulgaris* L.; *Malva neglecta* Wallr.; *Rumex obtusifolius* L.; *Tussilago farfara* L.

POLÁK, Z. (Institute of Experimental Botany of the Czechoslovak Academy of Sciences, Praha): *Other Spontaneous Hosts of the Tobacco Rattle Virus*. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 1-4.

The tobacco rattle virus was demonstrated in the root system of four wild perennial species with a wide ecological amplitude: mugwort (*Artemisia vulgaris* L.), cheese flower (*Malva neglecta* Wallr.), broad-leaved dock (*Rumex obtusifolius* L.), and coltsfoot (*Tussilago farfara* L.).

tobacco rattle disease; *Artemisia vulgaris* L.; *Malva neglecta* Wallr.; *Rumex obtusifolius* L.; *Tussilago farfara* L.

POLÁK, Z. (Institut für experimentelle Botanik der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Praha): *Weitere spontane Wirte des Virus der Mauchekrankheit des Tabaks*. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 1-4.

Das Virus der Tabakmauche wurde im Wurzelsystem von vier wildwachsenden Arten mit breiter ökologischer Amplitude nachgewiesen u. zw. in Gemeinem Beifuß (*Artemisia vulgaris* L.), Weg-Malve (*Malva neglecta* Wallr.), Stumpfbültrigem Ampfer (*Rumex obtusifolius* L.) und Gemeinem Huflattich (*Tussilago farfara* L.).

Virus der nekrotischen Tabakmauche; *Artemisia vulgaris* L.; *Malva neglecta* Wallr.; *Rumex obtusifolius* L.; *Tussilago farfara* L.

Adresa autora:

RNDr. Zdenko Polák, CSc., Ústav experimentální botaniky ČSAV, Na Karlovce 1, 160 00 Praha 6 - Dejvice

CARLAVIRUS BEZU ČERNÉHO, VIRUS MOZAIKY OKURKY A VIRUS MOZAIKY HUSENÍKU V BEZU ČERNÉM, *SAMBUCUS NIGRA* L.

Z. Polák, Z. Procházková

POLÁK, Z. — PROCHÁZKOVÁ, Z. (Ústav experimentální botaniky ČSAV, Praha): *Carlavirus bezu černého, virus mozaiky okurky a virus mozaiky huseníku v bezu černém, Sambucus nigra* L. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 5-8.

Bylo dokázáno, že vláknitý virus, izolovaný ze *Sambucus nigra* L., je identický s carlavirem bezu černého, který je nově prokázaným virem na území našeho státu. Dále byl ze *S. nigra* izolován virus mozaiky okurky a virus mozaiky huseníku.

Sambucus nigra L.; carlavirus bezu černého; virus mozaiky okurky; virus mozaiky huseníku

Zprávu o přítomnosti vláknitého viru v bezu černém, *Sambucus nigra* L., poprvé uveřejnili Brčák (1964) a Brčák, Polák (1966). Šlo o virus s rozměry 647 × 11–12 nm, přenosný na *Chenopodium quinoa* a *C. amaranticolor*, ale též na *Nicotiana tabacum* cv. Samsun. Posléze Jones (1970, 1972) izoloval ze *S. nigra* vláknitý virus, který nazval elderberry virus A. Hollings (1972) podává zprávu o vláknitém viru, vzdáleně příbuzném latentnímu viru karafiátu.

Ze *S. nigra* byly dále izolovány: virus mozaiky huseníku, arabis mosaic virus — AMV (Cadman, 1960; Harrison, Winslow, 1961), virus svinutky třesně, cherry leaf roll virus — CLRV (Schmelzer, 1965); virus latentní kroužkovitosti jahodníku, strawberry latent ringspot virus — SLRV (Lister, 1964), virus černé kroužkovitosti rajčete, tomato black ring virus — TBRV (Schmelzer, 1964, 1966), virus kroužkovitosti tabáku, tobacco ringspot virus — TobRV (Hansen, 1967), virus mozaiky tabáku, tobacco mosaic virus — TMV (Novák, Lanzová, 1974a) a virus zakrslosti rajčete, tomato bushy stunt virus — TBSV (Novák, Lanzová, 1980).

Van Lent et al. (1980), Van Lent a Dijkstra (1983) charakterizovali vláknitý virus, izolovaný jimi ze *S. racemosa* a *S. nigra*, a nazvali jej elderberry carlavirus (ECV) — carlavirus bezu černého.

Provedli jsme vyšetření řady keřů *S. nigra* na území Prahy 6 s cílem zjistit možné rozšíření ECV v *S. nigra*, případně prokázat identitu původního nálezu vláknitého viru ze *S. nigra* s ECV.

MATERIÁL A METODY

Základní přenosy ze spontánně infikovaných rostlin *S. nigra* byly provedeny na *Gomphrena globosa* L. a *Chenopodium quinoa* Willd.

Pro stanovení ECV bylo použito reakcí *G. globosa*, *C. quinoa*, *C. amaranticolor* Coste et Reyn. a *Crotalaria juncea* L. Byl stanoven termální inaktivační bod viru v surové šťávě z listů *G. globosa* a bylo provedeno elektronomikroskopické vyšetření délky virionů v homogenátech částí listů nebo smáčecí metodou z listů *G. globosa* a *C. juncea* negativním kontrastováním 1% octanem uranyle.

Sérologickou detekci ECV jsme prováděli v surové infekční šťávě z naražených pupenů *S. nigra*, posléze z listů *G. globosa* a *C. juncea* metodou dvojité difúze v agaru s antisérem proti ECV, získaným laskavostí Dr. Dijkstry z Virologické laboratoře Univerzity ve Wageningen, Nizozemí. Virus mozaiky okurky (CMV) byl prokázán antisérem vlastní výroby proti Ke kmenu CMV, který popsal Brčák (1979), a to po přenosu viru z *C. quinoa* na *Cucumis sativus* L. a *Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun. Pro stanovení viru mozaiky huseníku (AMV) bylo použito antiséra připraveného ing. M. Filigarovou, CSC., Imunodifúzní reakce byly provedeny v 0,8% agaru DIFCO-Noble rozpuštěném v 0,018M Mc Ilvaine pufru o pH 7,0 s přidáním 0,02% NaN₃, nebo v 1% DIFCO-Noble agaru rozpuštěním v 0,85% fyziologickém roztoku s přidáním 0,02% NaN₃. Antigen pro detekci ECV byl ovlivněn 2,5% pyrrolidinem (Shepard, 1970).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Izolaci vláknitého viru ze *S. nigra* jsme provedli ze dvou rostlin s příznaky celkové mírné chlorózy listů nebo slabé difúzní chlorotické skvrnitosti (které se nápadně odlišují od příznaků běžně vyvolávaných na listech *S. nigra* některými nepoviry). Jedna z obou rostlin byla původním keřem, ze kterého byl virus izolován (Brčák, Polák, 1966).

Přenosem na *G. globosa* se vytvořily lokální léze postupně nekrotizující s červeným okrajem, na *C. quinoa* světle šedé nepravidelné lokální léze.

Z *G. globosa* byly provedeny přenosy na *C. quinoa* a *C. amaranticolor*, které reagovaly tvorbou světlých lokálních nekrotizujících lézí a na *Crotalaria juncea*, reagující lehkou systémovou skvrnitostí spojenou s tvorbou drobných tmavých nekrotizací nebo nekrotizací nervatury.

Virus se nepodařilo přenést na: *Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun, *N. megalosiphon* Heurck et Muell., *Cucumis sativus* L. cv. Unikát a cv. Fénix, *Tetragonia expansa* MURR., *Trifolium incarnatum* L., *T. hybridum* L. cv. Tábořský, *Vicia faba* L., *Antirrhinum majus* L., *Pisum sativum* L. cv. Raman Elite.

Reakce použitých diferenčních hostitelů odpovídaly popisu, které uvedli Van Lent et al. (1980), Van Lent, Dijkstra (1983). Také stanovení termálního inaktivačního bodu v rozmezí 70–75 °C odpovídalo zjištění výše uvedených autorů.

Elektronomikroskopickým vyšetřením s proměřením celkem 175 ohebných částic byla zjištěna délka 660 nm a šířka 12 nm. Van Lent et al. (1980) uvádějí normální délku 678 nm a šířku 12 nm.

Testem dvojité difúze v agaru byla zjištěna specifická reakce mezi antisérem proti ECV a surovou infekční šťávou z naražených pupenů *S. nigra*, šťávou ze systémově ochuravělých listů rostlin *C. juncea* a listů *G. globosa* s příznaky lokální infekce (reakce se nevytvořila proti šťávě ze zdravých rostlin *C. juncea* a *G. globosa*).

V původním keři, ve kterém byl objeven vláknitý virus (Brčák, Polák, 1966), byla sérodiagnosticky prokázána i přítomnost AMV.

Tato skutečnost mohla v době objevu vláknitého viru vyvolat určité nepřesnosti v přenosu na hostitelské rostliny (přenos na *Nicotiana tabacum* cv. Samsun, nízký inaktivační bod odpovídající AMV apod.).

V jednom z vyšetřovaných keřů projevujícím slabé příznaky skvrnitosti byl po přenosu na *C. quinoa* z lokálních lézí izolován CMV a přenesen na *Cucumis sativus* cv. Unikát a *N. tabacum* cv. Samsun. Prokázán byl testem dvojité difúze v agaru.

Lovisoló (cit. Smith, 1952/54) poprvé izoloval CMV ze *Sambucus* spp. a Uyemoto, Gilmer [1971] a Uyemoto et al. [1971] ze *S. canadensis*.

Zjištěním EVC jako nového viru na území našeho státu a CMV v bezu černém byla rozšířena škála virů izolovaných z této rostliny na našem území. Jak uvádějí Brčák [1964], Brčák, Polák [1966], Novák [1969] a Novák, Lanzová [1974a, b; 1980] jsou to ještě AMV, virus svinutky třešně, virus černé kroužkovitosti rajčete, virus mozaiky tabáku a virus zakrslosti rajčete.

Literatura

- BRČÁK, J.: A virus disease of *Sambucus nigra* resembling infection by Arabis mosaic virus. In: Plant Virology. Proc. 5th Conf. Czechoslov. Pl. Virol., Prague, 1962, 1964, s. 280-282.
- BRČÁK, J.: Křimický kmen viru mozaiky okurky (CMV — Ke). Sbor. ÚVTIZ — Ochr. Rostl., 15, 1979, č. 2, s. 81-88.
- BRČÁK, J. — POLÁK, Z.: Importance of wild hosts of plant viruses. Meded. Rijksfac. Landb.-Wet. Gent, 31, 1966, s. 967-973.
- CADMAN, C. H.: Studies on the relationship between soil-borne viruses of the ringspot type occurring in Britain and Continental Europe. Virology, 11, 1960, s. 653-664.
- HANSEN, A. J.: A virus from golden elderberry. Phytopathology, 57, 1967, s. 813.
- HARRISON, B. D. — WINSLOW, R. D.: Laboratory and field studies on the relation of arabis mosaic virus to its nematode vector *Xiphinema diversicaudatum* (Micoletzky). Ann. appl. Biol., 49, 1961, s. 621-633.
- HOLLINGS, M.: Rep. Glasshouse Crops Res. Inst. 1971, 1972, s. 118-122.
- JONES, A. T.: Virus from elder. Report (Scott. hort. Res. Inst.), 1969, 1970, s. 58.
- JONES, A. T.: Purification and properties of elderberry latent virus, one of four sap-transmissible viruses obtained from American elder (*Sambucus canadensis* L.). Ann. appl. Biol., 70, 1972, s. 49-58.
- LISTER, R. M.: Strawberry latent ringspot: a new nematode-borne virus. Ann. appl. Biol., 54, 1964, s. 167-176.
- NOVÁK, J. B.: Isolation of a virus from *Sambucus* spp. and *Ligustrum vulgare* resembling the tomato black ring virus. Rostl. Vyr., 15, 1969, č. 5, s. 517-520.
- NOVÁK, J. B. — LANZOVA, J.: Izolace a identifikace viru mozaiky tabáku u různých dřevin. In: Sbor. věd. Pr. V. celostát. Konf. Ochr. Rostl., Brno 1974a, s. 285-288.
- NOVÁK, J. B. — LANZOVA, J.: Sérologická identifikace viru svinutky třešně na některých dřevinách v Československu. In: Sbor. Vys. Šk. zeměd., Fak. agron., Řada A, 1974b, s. 175-182.
- NOVÁK, J. B. — LANZOVA, J.: Důkaz viru zakrslosti rajčete (tomato bushy stunt virus) v některých lesních dřevinách a bylinách. Lesnictví, 26, 1980, s. 1009-1016.
- SHEPARD, J. F.: A radial-immunodiffusion test for the simultaneous diagnosis of potato viruses S and X. Phytopathology, 60, 1970, s. 1669-1671.
- SCHMELZER, K.: Virosen der Ziergehölze und ihre epidemiologische Bedeutung. Tagungsberichte (Dtsch. Akad. Landwirtsch.), 13, 1964, s. 45-59.
- SCHMELZER, K.: Hosts of cherry leafroll virus among wild woody plants. Zašt. Bilja, 85-88, 1965, s. 485-489.
- SCHMELZER, K.: Untersuchungen an Viren der Zier- und Wildgehölze. 5. Mitteilung: Viroten an Populus und Sambucus. Phytopath. Z., 55, 1966, s. 317-351.
- SMITH, K. M.: Some recent work on plant viruses. Sci. Hort., 11, 1952/54, s. 98-103.
- UYEMOTO, J. K. — GILMER, R. M.: Sap transmissible viruses from elderberries in New York. Phytopathology, 61, 1971, s. 132.
- UYEMOTO, J. K. — GILMER, R. M. — WILLIAMS, E.: Sap-transmissible virus of elderberry in New York. Pl. Dis. Repr., 55, 1971, s. 913-916.

VAN LENT, J. W. M. — DIJKSTRA, J.: Elderberry carlavirus. C. M. I./A. A. B. Descriptions of plant viruses, 1983, č. 263, s. 1-4.

VAN LENT, J. W. M. — WIT, A. J. — DIJKSTRA, J.: Characterization of a carlavirus in elderberry (*Sambucus* spp.). Netherl. J. Pl. Path., 86, 1980, s. 117-134.

Došlo dne 13. 7. 1987

ПОЛАК, З. — ПРОХАЗКОВА, З. (Институт экспериментальной ботаники ЧСАН, Прага): Карлавирус бузины черной, вирус огуречной мозаики и вирус мозаики резухи в бузине черной, *Sambucus nigra* L. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 5-8.

Было доказано, что волокнистый вирус, изолированный из *Sambucus nigra* L., является идентичным с карлавирусом бузины черной, который является новодокладным вирусом на территории нашего государства. Далее был из *S. nigra* изолирован вирус огуречной мозаики и вирус мозаики резухи.

Sambucus nigra L.; карлавирус бузины черной; вирус огуречной мозаики; вирус мозаики резухи

POLÁK, Z. — PROCHÁZKOVÁ, Z. (Institute of Experimental Botany of the Czechoslovak Academy of Sciences, Praha): The Elder Carlavirus, Cucumber Mosaic Virus, and Arabis Mosaic Virus in the Elder, *Sambucus nigra* L. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 5-8.

It has been demonstrated that the filamentous virus isolated from *Sambucus nigra* L. is identical with the elderberry carlavirus, which is a new virus found on the territory of Czechoslovakia. Cucumber mosaic virus and arabis mosaic virus were also isolated from *S. nigra*.

Sambucus nigra L.; elderberry carlavirus; cucumber mosaic virus; arabis mosaic virus

POLÁK, Z. — PROCHÁZKOVÁ, Z. (Institut für experimentelle Botanik der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Praha): Carlavirus des Holunders, Virus des Gurkenmosaiks und Virus des Arabis-Mosaiks in Holunder, *Sambucus nigra* L. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 5-8.

Es konnte nachgewiesen werden, daß das aus *Sambucus nigra* L. isolierte faserartige Virus mit dem Carlavirus des Holunders identisch ist und ein auf dem Gebiet unseres Staates neu nachgewiesenes Virus darstellt. Aus *S. nigra* wurden weiter das Virus des Gurkenmosaiks und des Arabis-Mosaiks isoliert.

Sambucus nigra L.; Carlavirus des Holunders; Virus des Gurkenmosaiks; Virus des Arabis-(Gänsekresse)-Mosaiks

Adresa autorů:

RNDr. Zdenko Polák, CSc., RNDr. Zdenka Procházková, Ústav experimentální botaniky ČSAV, Na Karlovce 1, 160 00 Praha 6 - Dejvice

PURIFIKACE VIRU, PŘÍPRAVA SPECIFICKÝCH PROTILÁTEK A DIAGNÓZA VIRU SVINUTKY BRAMBORU PROTILÁTKAMI KONJUGOVANÝMI KŘENOVOU PEROXIDÁZOU

J. Polák, P. Žák, M. Jokeš

POLÁK, J. — ŽÁK, P. — JOKEŠ, M. (Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha-Ruzyně; Ústav experimentální botaniky ČSAV, Praha): *Purifikace viru, příprava specifických protilátek a diagnóza viru svinutky bramboru protilátkami konjugovanými křenovou peroxidázou*. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 9-18.

Virus svinutky bramboru (PLRV) byl purifikován ze 650 g infikovaných rostlin *Physalis floridana* Rydb. metodou, modifikovanou podle Takanami a Kubo (1979). Virus byl z rostlinných pletiv uvolňován enzymy celulázou (1 %) a pektinázou (0,5 %) po 18 hodin při teplotě 30 °C. Specifické protilátky PLRV pro potažení desek byly připraveny za 33 dní celkovou dávkou 0,38 mg viru, injikovanou během 21 dní ve dvou intravenózních a dvou intramuskulárních injekcích. Startovací intravenózní injekce obsahovala 0,06 mg viru. Specifické protilátky k PLRV pro konjugaci s enzymem byly připraveny další imunizací králíka dávkou 0,255 mg viru, kombinací intravenózní a intramuskulární injekce 56. den. Protilátka byla získána 67. den a byla konjugována se křenovou peroxidázou. Připravené protilátky byly použity k diagnóze viru svinutky bramboru v rostlinách bramboru odrůdy 'Karin' a *P. floridana*. Titr PLRV dosahoval v rostlinách bramboru 1 : 320, v rostlinách *P. floridana* byl minimálně o jeden stupeň vyšší. Hodnoty extinkce zdravých vzorků byly vždy pod 0,1.

virus svinutky bramboru; purifikace viru; celulóza a pektináza; příprava protilátek; konjugace peroxidázou ze křenu; diagnóza viru; ELISA; rostliny bramboru

Virus svinutky bramboru — potato leaf roll virus (PLRV) způsobuje nejškodlivější virovou chorobu bramboru, svinutku. Svinutka bramboru je zároveň jednou z nejdéle známých virových chorob rostlin (Quanjér, 1913). Zároveň patří spolu s A virem bramboru — potato virus A k nejobtížněji diagnostikovatelným virům bramboru. Spolehlivá diagnóza tohoto viru široce využitelná v praxi nebyla až donedávna prakticky možná. Zpřístupnily ji dva zásadní objevy, a to zavedení imunoenzymatických testů do diagnózy rostlinných virů (Clark, Adams, 1977) a uplatnění enzymů uvolňujících viriony z pletiv floému infikovaných rostlin v purifikačním postupu. Přesto purifikace PLRV a příprava protilátek patří k nejobtížnějším postupům mezi rostlinnými viry, a proto se předpokládá, že v československých podmínkách bude výhodnější připravit monoklonální protilátky viru svinutky bramboru.

Výzkum viru svinutky bramboru byl velmi intenzivní především v Holandsku, kde Peters (1967) jako první provedl úspěšnou purifikaci z infekčních mšic tak, že prokázal tvar a velikost virionů PLRV jako mnohostěn o průměru 23 nm. Z rost-

lin *Physalis floridana* Rydb., *Solanum tuberosum* L. a *Datura stramonium* L. první purifikovali virus Japonci (Kojima et al., 1969; Arai et al., 1969). Výzkumem antigenních vlastností a sérologickou diagnózou viru svinutky bramboru se zabývaly především virologické laboratoře v Holandsku, Japonsku, USA, Francii, NSR a NDR.

První specifické protilátky připravili Murayama a Kojima (1974). Detegovali jimi purifikovaný antigen PLRV v Ouchterlonyho testu. Detekci PLRV v rostlinách bramboru a *P. floridana* poprvé provedl až Casper (1977) pomocí metody ELISA s japonskými protilátkami konjugovanými alkalickou fosfatázou. Je zajímavé, že tyto protilátky nereagovaly s PLRV v Ouchterlonyho testech v agarovém gelu, koncentrace antigenu byla asi pod prahem citlivosti reakce.

Další protilátky PLRV, kterými bylo možné detegovat virus v rostlinách bramboru, byly připraveny ve Francii (Mehrad et al., 1978), v Holandsku (Maat, de Bokx, 1978), Švýcarsku (Gugerli, 1979) a Kanadě (Rowhani, Stace-Smith, 1979).

Nový kvalitativní zvrat v přípravě protilátek PLRV přineslo použití driselázy v purifikačním postupu, který navrhl Takanami a Kubo (1979), kteří tak zvýšili výtěžnost viru až pětkrát oproti původnímu postupu, který navrhli Murayama a Kojima (1974). Na základě této práce byly připraveny nové protilátky PLRV i v dalších zemích. V NDR Proll et al. (1984) porovnali účinnost enzymů driselázy, macerozymu a vlastní směsi enzymů získané z *Penicillium citroviride* (HuPc) v purifikačním postupu viru. Zjistili přibližně stejnou účinnost všech zkoušených enzymů, však driselázu a macerozym přidávali do koncentrace 1 %, zatímco HuPc do koncentrace 7,5 %. Všechny dosud připravené protilátky PLRV byly pro imunoenzymatické testy konjugovány alkalickou fosfatázou.

V Československu se v bramborářství začaly používat v praktické diagnóze PLRV metodou ELISA protilátky souprav komerční výroby dovážené ze zahraničí od roku 1983. Ve stejné době začal výzkum přípravy monoklonálních protilátek PLRV v Ústavu molekulární genetiky ČSAV ve spolupráci s Ústavem experimentální botaniky ČSAV Praha a s Výzkumným a šlechtitelským ústavem bramborářským Havlíčkův Brod. Ve Virologickém ústavu SAV Bratislava připravil Gallo (1986, nepublikováno) polyklonální protilátky PLRV, které našly uplatnění v nepřímé metodě ELISA s využitím antigenově specifických protilátek od dvou druhů zvířat a byly využity v praktickém testování šlechtitelského a množitelského materiálu bramboru, především na Slovensku.

V souvislosti s potřebou mít vlastní protilátky PLRV pro výzkum Luteovirů a zaváděním přímé metody ELISA s protilátkami konjugovanými křenovou peroxidázou, jsme v roce 1986 připravili specifické protilátky k viru svinutky bramboru, konjugovali je křenovou peroxidázou a použili k diagnóze viru v rostlinách bramboru a *P. floridana*.

MATERIÁL A METODY

Isolát viru k udržování a množení viru

Pro purifikaci viru svinutky bramboru jsme použili holandský izolát „Rode Pipa“, který jsme udržovali a množili na rostlinách *Physalis floridana* Rydb. Rostliny jsme pěstovali ze semene a virem infikovali pomocí alátních mšic *Myzus persicae* (Sulz.), když byly ve stadiu šesti pravých listů. Mšice broskvoňové, množené na zdravých rostlinách řepky olejky [*Brassica napus* L. var. *arvensis* (Lam.) Thell.], jsme přenášeli ke 24hodinovému nabývacímu sání na rostliny *P. floridana*, infikované PLRV a potom ke 48 až 72hodinovému inokulačnímu sání na zdravé rostliny *P. floridana*. Na každou rostlinu jsme použili 10 infekčních mšic. Po uplynutí doby inokulačního sání jsme mšice usmrtili insekticidem Pirimor. Inokulované rostliny jsme pěstovali od letního do podzimního období ve studeném skleníku, kde teplota kolísala od 10 °C do 35 °C v závislosti na vnějších podmínkách. Infikované rostliny jsme za osm týdnů sklídili sestřiháním tak, že jsme spodní část rostlin s několika listy ponechali k dalšímu růstu a množení viru. Sklizený rostlinný materiál jsme zmrazili na -18 °C a za 70 hodin jsme ho použili k purifikaci viru. Sestřihané rostliny jsme přihnojili NPK a po dalších osmi týdnech růstu použili ke druhé purifikaci viru.

Purifikace viru

Virus svinutky bramboru jsme purifikovali modifikovaným postupem, který navrhli Takanami a Kubo (1979). Modifikace postupu spočívala především v tom, že jsme místo enzymu driselázy použili levnější enzymy, celulózu a pektinázu a homogenát obsahující enzymy jsme inkubovali přes noc při teplotě 30 °C. Zároveň jsme přihlíželi i k holandské modifikaci japonského postupu purifikace PLRV (Maat, 1985 — osobní sdělení) a opakovali centrifugaci na sacharózovém gradientu.

Postup purifikace viru

1. 650 g infikovaných rostlin jsme homogenizovali ve 1300 ml 0,1M citrátu sodného, jehož pH bylo upraveno 0,1M kyselinou citronovou na pH 6,0. Homogenizační pufr dále obsahoval 0,1 % (objemových) kyseliny thioglykolové, 1 % (hmotnostní) celulózy a 0,5 % (hmotnostních) pektinázy.
2. Homogenát jsme za stálého míchání inkubovali 18 hodin (přes noc) při teplotě 30 °C.
3. Homogenát jsme třepali se 73 ml chloroformu a 73 ml n-butanolu po dobu pěti minut ve třepačce.
4. Emulzi jsme odstředili na odstředivce Janetzki (NDR) 15 minut při 4000 g a teplotě 15 °C.
5. K vodní fázi jsme přidali PEG 6000 do koncentrace 8 % (hmotnost/objem) a chlorid sodný do koncentrace 0,4 mol/l a míchali 30 minut při pokojové teplotě.
6. Suspenzi jsme odstředili 15 minut při 7000 g a teplotě 15 °C.
7. Sediment jsme resuspendovali ve 300 ml 0,01M borátového pufru o pH 8,0, přidali 1 % Tritonu X-100 (hmotnost/objem) a míchali přes noc při teplotě 4 °C.
8. Suspenzi jsme odstředili 10 minut při 6000 g a teplotě 15 °C.
9. Supernatant jsme odstředili na ultracentrifuze Spinco L 8-55 (Beckman) 2,5 hodiny v r. 30 při 30 000 ot./min a teplotě 4 °C.
10. Sediment jsme resuspendovali ve 40 ml 0,01M fosfátového pufru o pH 7,6 (dle Sørensen) a míchali jednu hodinu při pokojové teplotě.
11. Suspenzi jsme odstředili 10 minut při 4000 g a teplotě 15 °C.
12. Supernatant jsme odstředili 2,5 hodiny v r. 30 při 30 000 ot./min a teplotě 4 °C.
13. Sediment jsme resuspendovali celkem ve 4 ml 0,01M fosfátového pufru o pH 7,6 a míchali přes noc při teplotě 4 °C.
14. Suspenzi jsme odstředili 10 minut při 4000 g a teplotě 15 °C.
15. Supernatant jsme odstředili na sacharózovém gradientu (10–40%) ve fosfátovém pufru tři hodiny v r. SW 28 při 28 000 ot./min a teplotě 4 °C tak, že na každý gradient (zkumavku) byl navrstven 1 ml suspenze obsahující virus.
16. Obsah zkumavek jsme jejich dnem kontinuálně odebrali pomocí zařízení fy Beckman, proměřili UV analyzátozem při 254 nm a rozdělili na sběrači frakcí vyrobeném v dílnách ČSAV. Frakce obsahující proteiny jsme vyšetřili na elektronovém mikroskopu.
17. Frakce obsahující virové částice jsme zředili 1 : 3 fosfátovým pufrém a odstředili 2,5 hodiny v r. 40 při 40 000 ot./min a teplotě 4 °C.
18. Sediment jsme resuspendovali, celkem ve 4 ml fosfátového pufru a míchali přes noc při teplotě 4 °C.
19. Zopakovali jsme čištění viru na sacharózovém gradientu, tj. kroky 14, 15, 16 a 17.
20. Sediment jsme resuspendovali celkem ve 4 ml fosfátového pufru, zjistili přítomnost částic PLRV na elektronovém mikroskopu, suspenzi proměřili na spektrofotometru při A_{260} a použili k imunizaci králíků jako antigen viru svinutky bramboru. Před imunizací byl preparát viru uchovávan při teplotě 4 °C.

Elektronová mikroskopie

Preparáty pro elektronmikroskopické stanovení viru svinutky bramboru jsme negativně barvili 2% kyselinou fosfowolframovou (pH 6,8) tak, že jsme zkoušenou suspenzi smíchali s kontrastujícím roztokem 1 : 1 nebo 1 : 2. Preparáty jsme pozorovali na sítkách potažených formvarovou blanou v elektronovém mikroskopu Tesla BS-500.

Schéma imunizace pokusných zvířat

Imunizovali jsme dva pokusné králíky kombinací intravenózních a intramuskulárních injekcí antigenu PLRV s Freundovým adjuvans v souladu s dosavadními poznatky tak, abychom s minimální celkovou dávkou antigenu získali v krátké době protilátky vhodné pro imunoenzymatické testy. První odběr krve jsme provedli po čtyřech injekcích antigenu za 33 dní od začátku imunizace. Druhé zvíře jsme imunizovali ještě jednou kombinovanou dávkou antigenu za osm týdnů po začátku imunizace a odběr krve provedli 67. den.

Den	Králík č. 1	Králík č. 2
1.	60 μ g iv	60 μ g iv
14.	85 μ g + Freund. adj. im	85 μ g + Freund. adj. im
17.	150 μ g iv	150 μ g iv
21.	85 μ g + Freund. adj. im	85 μ g + Freund. adj. im
33.	odběr krve	odběr krve
56.	—	170 μ g iv 85 μ g + Freund. adj. im
67.	—	odběr krve

Vysvětlivky: iv — intravenózně; im — intramuskulárně

Izolace protilátek a konjugace enzymem

Antiséra jsme z krve imunizovaných zvířat připravili běžným způsobem. Po oddělení od krevního koláče jsme antiséra odstředili 30 minut při nízkých otáčkách (1000 g) a supernatant zfiltrovali přes Seitzův filtr. Protilátky jsme z antisér izolovali a konjugovali křenovou peroxidázou postupem, který podrobně popsali Polák a Křístek (1988). Postup izolace protilátek je založen na opakovaném srážení antiséra nasyceným roztokem síranu amonného a purifikaci s DEAE-52 (Whatman) celulózou. Připravené imunoglobulíny (IgG) PLRV jsme konzervovali přidáním 0,001% mertiolátu sodného a lyofilizací. IgG PLRV jsme konjugovali s enzymem modifikací oxidační jodistanové metody. Použili jsme 5 mg křenové peroxidázy RZ = 3, 250 U/ml (fy Boehringer, Mannheim), nebo 10 mg RZ = 2,85, 210 U/ml (fy ÚSOL, Bohumily, ČSSR) a 10 mg IgG viru svinutky bramboru. Konjugované protilátky jsme frakcionovali na koloně Sephadexu G-200 (Pharmacia, Uppsala). Frakce s molárním poměrem peroxidázy ku IgG 1,0 až 2,5 jsme smíchali (celkem 4 ml), přidali 1% hovězího sérového albuminu (BSA) a 0,001% mertiolátu sodného a takto připravené konjugované protilátky skladujeme při teplotě 4 °C.

Diagnóza viru svinutky bramboru v rostlinách postupem ELISA

Diagnózu PLRV v rostlinách bramboru odrůdy 'Karin' a *P. floridana* jsme prováděli postupem ELISA, který uvedli Polák a Křístek (1988). Jako antigen jsme použili šťávu z rostlin infikovaných virem. Pro kontrolu jsme používali šťávu ze zdravých rostlin. Optimalizaci diagnózy viru připravenými protilátkami pomocí metody ELISA jsme provedli stanovením optimální koncentrace protilátek. K tomu jsme stanovili titry antigenů, tj. relativní koncentraci PLRV ve šťávě jednotlivých rostlin. Pro porovnání kvality připravených protilátek jsme použili protilátky PLRV fy Bioreba. Obě kontrolní protilátky (nekonjugovanou a konjugovanou alkalickou fosfatázou) jsme podle předpisu ředili v poměru 1 : 1000.

Rostliny bramboru odrůdy 'Karin' byly infikovány izolátem viru svinutky bramboru z VŠÚB Havlíčkův Brod, který byl získán z pole a běžně se v ČSSR vyskytuje. Protilátky připravené proti zahraničnímu izolátu viru tak byly testovány izolátem viru, který je rozšířen v našich podmínkách.

Postup diagnózy PLRV přímou metodou ELISA protilátkami konjugovanými křenovou peroxidázou

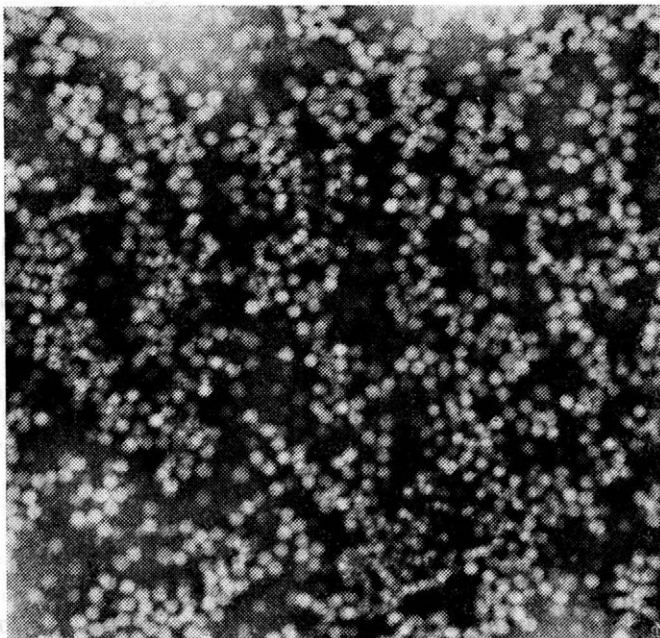
1. Do jamek mikrotitračních desek (Microelisa, Dynatech, nebo KOH-I-NOOR, ČSSR) jsme pipetovali 200 μ l IgG PLRV ředěných v 0,01M karbonátovém pufru (pH 9,2) a inkubovali je 16 hodin při teplotě 4 °C.

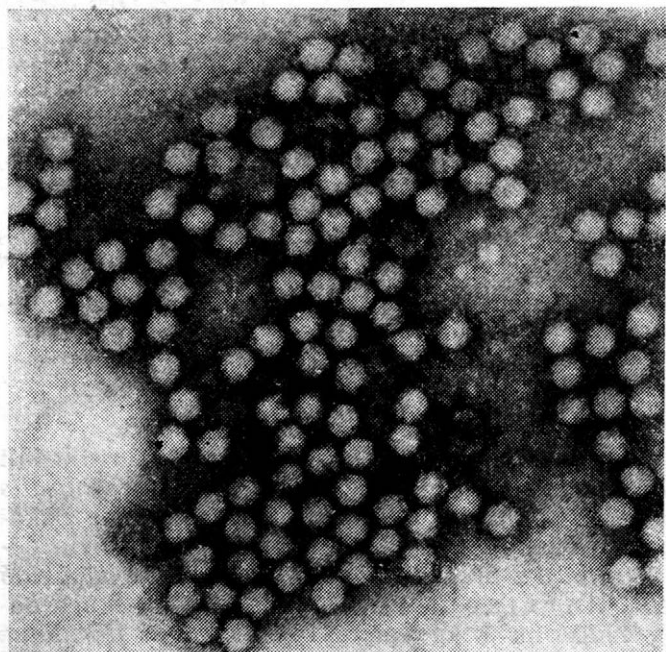
- Jamky jsme třikrát promyli pufrem PBS (pH 7,2) s 0,05 % Tween 20.
- Do jamek jsme pipetovali 100 μ l antigenu (šťávy ze zkoušených rostlin) ředěného v pufru PBS (pH 7,2) s 0,05 % Tween 20 a 0,5 % hovězího sérového albuminu. Antigen jsme inkubovali 2,5 hodiny při teplotě 35 °C.
- Jamky jsme třikrát promyli pufrem PBS (pH 7,2) + Tween.
- Do jamek jsme pipetovali 100 μ l IgG PLRV konjugovaných peroxidázou, ředěných v 0,1M Tris-HCl pufru (pH 7,4) s 0,05 % Tween 20 a 1 % hovězího sérového albuminu. Inkubace probíhala 1,5 hodiny při teplotě 35 °C.
- Jamky jsme čtyřikrát promyli pufrem PBS + Tween.
- Do jamek jsme pipetovali 100 μ l substrátu (citrát-fosfátový pufr s 80 μ l 30% H_2O_2 a 34 mg o-fenylen diaminu ve 100 ml). Inkubace probíhala 20 minut ve tmě při pokojové teplotě.
- Reakci jsme zastavili 50 μ l 4N H_2SO_4 a na fotometru Microelisa reader (Dynatech) stanovili hodnoty extinkce při 488 nm.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Virus svinutky bramboru jsme pro přípravu protilátek purifikovali dvakrát. K purifikaci viru jsme pokaždé použili 650 g rostlin *Physalis floridana* a enzymy celulózu a pektinázu. Při první purifikaci jsme získali 0,76 mg viru. Koncentrace viru ve 4 ml získaného preparátu byla odhadnuta z absorbance při 260 nm a z předpokladu, že 1 mg PLRV odpovídá hodnotě 8,6 A_{260} (Gibbs, Harrison, 1976). Výsledek purifikace odpovídá výtěžku 1,17 mg PLRV na 1 kg čerstvých rostlin *P. floridana*. Takanami a Kubo (1979) dosáhli výtěžku 1,3 mg na 1 kg rostlin *P. floridana* a Proll et al. (1984) 1,0 mg na 1 kg listů bramboru, více než když použili *P. floridana*. Výsledky purifikace PLRV potvrdily, že při použití enzymů k uvolnění virových částic z floemových pletiv je možné z poměrně málo množství rostlinného materiálu získat dostatečné množství antigenu pro získání protilátek vhodných pro imunoenzymatické stanovení viru v rostlinách.

1. Elektronogram viru svinutky bramboru. Purifikovaný virus z rostlin *Physalis floridana*. Celková zvětšení 96 000-krát — An electronogram of potato leafroll virus. Purified virus from *Physalis floridana* plants. Total magnification 96,000X





2. Detail částic viru svinutky bramboru, purifikovaných z rostlin *P. floridana*. Průměr izometrických částic je 24 nm. Celkové zvětšení 210 000krát — The detail of virions of PLRV, purified from *P. floridana* plants. The average of isometric particles is 24 nm. Total magnification 210,000X

Prokázali jsme, že enzymový preparát driseláza může být v purifikaci PLRV rovnocenně nahrazen levnější celulázou a pektinázou. Výhledově by bylo možné používat pro purifikaci PLRV enzymy domácí, československé produkce, podobně jako v NDR, kde Proll et al. (1984) použili tuzemský enzym HuPc a dosáhli výsledky srovnatelné s driselázou.

Elektronmikroskopické preparáty připravené z purifikovaného PLRV obsahovaly množství izometrických částic viru (obr. 1). Při první purifikaci jsme zjistili, že preparáty PLRV po první centrifugaci na sacharózovém gradientu obsahovaly méně virionů a více nečistot, proto byla opakovaná centrifugace na sacharózovém gradientu nutná. Při druhé purifikaci viru obsahoval preparát velké množství virových částic již po první centrifugaci na sacharózovém gradientu, a proto byl po 18. kroku použit k imunizaci pokusného zvířete.

Zvětšením virionů PLRV (obr. 2) a porovnáním jejich velikosti s průměrem částic viru mozaiky tabáku (18 nm), které jsme přimíchali do preparátu, jsme stanovili velikost částic viru svinutky bramboru na 24 nm. Naměřená hodnota odpovídá údajům z literatury, např. Peters (1967) udává 23 nm, Takanami a Kubo (1979) a Proll et al. (1984) 25 nm.

Postup imunizace pokusných zvířat jsme provedli proto, abychom získali kvalitní protilátky. Získané množství 0,76 mg PLRV jsme injikovali dvěma zvířatům ve čtyřech dávkách, kombinací intravenózních a intramuskulárních injekcí s Freundovým adjuvans. Startovací injekce obsahovala 60 μ g viru, pak jsme dávky antigenu zvýšili. Oba králíci obdrželi během 21 dní celkem 380 μ g viru. Již za 33 dní od začátku imunizace jsme získali antiséra obsahující specifické protilátky PLRV, které byly v adsorbci na mikrotitrační desky ELISA rovnocenné komerčně vyráběným protilátkám. Porovnání s protilátkami PLRV fy Bio-

I. Porovnání citlivosti a specifičnosti připravených protilátek k viru svinutky bramboru se standardními protilátkami (fy Bioreba) — The sensitivity and specificity of the prepared antibodies to the potato leafroll virus compared with the standard antibodies (fy Bioreba)

Protilátka			Hodnoty extinkce $A_{405} \times 100$					Pufr
			Ředění antigenu					
			1 : 10	1 : 40	1 : 160	1 : 640	1 : 2560	
IgG 1	1 : 1000	a	135 ± 7	69 ± 4	21 ± 2	8 ± 1	1 ± 1	0 ± 0
		b	2 ± 1	2 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
	1 : 5000	a	111 ± 5	78 ± 5	24 ± 1	9 ± 2	2 ± 1	1 ± 1
		b	3 ± 2	2 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
IgG 2	1 : 1000	a	141 ± 8	45 ± 4	12 ± 2	3 ± 1	1 ± 1	0 ± 0
		b	2 ± 2	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	0 ± 0	1 ± 1
	1 : 5000	a	128 ± 4	58 ± 3	18 ± 2	8 ± 2	2 ± 1	0 ± 0
		b	2 ± 1	2 ± 2	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
IgG Bioreba	1 : 1000	a	78 ± 4	40 ± 2	24 ± 2	15 ± 1	10 ± 1	1 ± 1
		b	2 ± 2	6 ± 3	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	0 ± 0

Hodnoty extinkce jsou aritmetickým průměrem čtyř paralelních stanovení. Naměřené hodnoty s odchylkou $1,35 \pm 0,07$, atd.

Antigen: a — šťáva z rostlin *P. floridana*, infikovaných virem svinutky bramboru

b — šťáva ze zdravých rostlin *P. floridana*.

Pufr: kontrolní a pro ředění antigenu, viz materiál a metody, postup diagnózy PLRV (krok 3).

II. Titr antigenu svinutky bramboru v rostlinách bramboru odrůdy 'Karin' a *P. floridana*, stanovený metodou ELISA s protilátkami IgG 21 PLRV konjugovanými křenuvou peroxidázou — Titre of the antigen of the potato leafroll virus in the plants of the 'Karin' potato variety and in the plants of *P. floridana*, as determined by the ELISA method with the IgG 21 PLRV antibodies conjugated with horse-radish peroxidase

Antigen	Hodnoty extinkce $A_{488} \times 100$										Pufr
	Ředění antigenu										
	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280		
Karin 1	146 ± 24	103 ± 5	71 ± 8	41 ± 7	24 ± 3	10 ± 2	7 ± 2	5 ± 4	3 ± 3	2 ± 1	
Karin 2	165 ± 35	104 ± 4	78 ± 6	56 ± 5	32 ± 13	19 ± 2	7 ± 2	4 ± 2	2 ± 1	1 ± 0	
Karin 3	—	125 ± 28	75 ± 3	48 ± 3	25 ± 5	14 ± 2	7 ± 2	5 ± 3	2 ± 1	1 ± 1	
Karin 4	—	69 ± 2	55 ± 5	36 ± 6	20 ± 6	14 ± 4	9 ± 3	6 ± 1	3 ± 3	1 ± 0	
Karin 5 (zdravá)	—	5 ± 3	3 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	1 ± 1	2 ± 1	1 ± 0	1 ± 1	
<i>P. floridana</i>	—	47 ± 13	47 ± 8	48 ± 3	32 ± 1	26 ± 2	15 ± 2	12 ± 1	6 ± 3	1 ± 0	

Hodnoty extinkce jsou aritmetickým průměrem čtyř paralelních stanovení.

Naměřené hodnoty s odchylkou $1,46 \pm 0,24$, atd.

Antigen: šťáva z rostlin bramboru odrůdy 'Karin' a *P. floridana*, ředěná puftrem.

Pufr: kontrolní a pro ředění antigenu, viz materiál a metody, postup diagnózy PLRV (krok 3).

reba je uvedeno v tab. I. Porovnávání protilátek (imunoglobulíny) byly testovány přímou metodou ELISA pomocí protilátek PLRV fy Bioreba, konjugovaných alkalickou fosfatázou. Dosažené výsledky ukazují, že obě připravené protilátky (IgG 1 a IgG 2) jsou specifické a stejně citlivé jako kontrolní protilátky (IgG Bioreba). Nereagují se šťávou ze zdravých rostlin *P. floridana* a hodnoty extinkce vzorků obsahujících virus jsou dokonce vyšší než u kontrolních protilátek.

Specifické a citlivé protilátky k viru svinutky bramboru se nám podařilo připravit imunizací zvířat minimálním množstvím 0,38 mg viru z 0,65 kg infekčního materiálu, uvážíme-li, že např. Maat a De Bokx (1978) potřebovali k imunizaci jednoho králíka až 18 kg infekčního materiálu. Dosáhli jsme dokonce lepší výsledky než Proll et al. (1984), kteří získali dvě specifické protilátky imunizací zvířat celkovou dávkou 0,78 a 0,77 mg viru. Když imunizovali jiná dvě zvířata dávkou 0,225 mg viru tak, že použili dvě injekce antigenu, protilátky k PLRV byly méně kvalitní, nevhodné pro přímé stanovení viru v rostlinách.

Protilátky k PLRV získané za 33 dní od začátku imunizace celkovou dávkou 0,38 mg viru jsme nepoužili ke konjugaci s enzymem, protože jsme předpokládali, že jsou pro ni příliš časně. Provedli jsme druhou purifikaci viru ze stejného množství rostlinného materiálu. Při frakcionaci viru po prvním sacharózovém gradientu však došlo ke ztrátám. Získali jsme pouze 1,5 ml suspenze obsahující 0,255 mg viru. Tímto preparátem jsme imunizovali 56. den králíka č. 2, který tak obdržel v šesti injekcích celkem 0,635 mg viru. Protilátky IgG 21 získané 67. den po začátku imunizace jsme konjugovali s křenovou peroxidázou. Konjugované protilátky jsme použili k diagnóze viru svinutky bramboru v rostlinách bramboru odrůdy 'Karin' a *P. floridana*. Protilátky IgG 1 a IgG 2 jsme zlyofilizovali a v naší metodě ELISA používali pro potažení jamek mikrotitračních desek.

Stanovili jsme optimální ředění IgG 2 1 : 1000, tj. 1 μ g/ml pro potažení desek a IgG 21 konjugovaných křenovou peroxidázou 1 : 200. Těmito protilátkami jsme pak stanovili titr antigenu (relativní koncentrace viru) ve šťávě z rostlin *S. tuberosum* odrůdy 'Karin' a *P. floridana*, infikovaných PLRV (tab. II).

Z dosažených výsledků je zřejmé, že připravené protilátky jsou vhodné k diagnóze viru svinutky bramboru pomocí metody ELISA v rostlinách bramboru. Naše protilátky jsou schopny detegovat třístokrát menší množství viru než to, které bylo obsaženo v rostlinách odrůdy 'Karin'. Protilátky PLRV konjugované křenovou peroxidázou jsou v systému přímé metody ELISA specifické, hodnoty zdravých vzorků byly vždy pod 0,1 (A_{488}). Titr antigenu PLRV dosahuje v rostlinách bramboru hodnotu 1 : 320, v rostlinách *P. floridana* je minimálně o jeden stupeň vyšší. Tento výsledek nesouhlasí se zjištěním některých autorů (např. Proll et al., 1984), podle nichž je v rostlinách bramboru vyšší koncentrace viru svinutky než v rostlinách *P. floridana*. Některé náchylné odrůdy bramboru však mohou obsahovat vyšší koncentraci PLRV. Pokud koncentrace PLRV dosahuje v rostlinách bramboru 1 až 2 μ g na 1 g pletiva nebo 1 ml šťávy (Gugerli, 1979; Tamada a Harrison, 1980), stanovili jsme pomocí metody ELISA minimální množství 6 až 3 ng viru v 1 ml ředěné šťávy.

Pro purifikaci PLRV doporučujeme používat rostliny *P. floridana*. Rostliny bramboru mohou být snadno kontaminovány několika vláknitý-

mi viry přenosnými mšicemi a preparáty purifikovaného viru mohou obsahovat zbytky normálních bílkovin. Výsledkem imunizace pak mohou být nespecifické protilátky.

Poděkování

Děkujeme techn. J. Pívalové za provedení pokusů, zejména konjugace protilátek a imunoenzymatických testů, dr. D. Petersovi ze Zemědělské univerzity ve Wageningen a dr. D. Z. Maatovi z IPO Wageningen za poskytnutí cenných rad a zkušeností, dr. D. Z. Maatovi za poskytnutí izolátu PLRV 'Rode Pipó', ing. J. Nohejlovi, CSc., za poskytnutí československého izolátu viru a panu Fuchsovi (fy Bioreba) za poskytnutí komerčních protilátek k viru svídky bramboru.

Literatura

- ARAI, K. — DOI, Y. — YORA, K. — ASUYAMA, H.: Electron microscopy of the potato leafroll virus in leaves of three kinds of host plants and the partial purification of the virus. *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, 35, 1969, s. 10-15.
- CASPER, R.: Detection of potato leafroll virus in potato and in *Physalis floridana* by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Phytopath. Z.*, 90, 1977, s. 364-368.
- CLARK, M. F. — ADAMS, A. N.: Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. gen. Virol.*, 34, 1977, s. 475-483.
- GIBBS, A. J. — HARRISON, B. D.: Physical and chemical methods of assay and analysis. In: *Plant Virology: The Principles*. London. Edward Arnold Ltd. 1976, s. 110-128.
- GUGERLI, P.: Potato virus A and potato leafroll virus: purification, antiserum production and serological detection in potato and test plants by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Phytopath. Z.*, 96, 1979, s. 97-107.
- KOJIMA, M. — SHIKATA, E. — SUGAWARA, M. — MURAYAMA, D.: Purification and electron microscopy of potato leafroll virus. *Virology*, 39, 1969, s. 162-174.
- MAAT, D. Z. — BOKX, J. A. DE: Potato leafroll virus: antiserum preparation and detection in potato leaves and sprouts with the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Neth. J. Pl. Path.*, 84, 1978, s. 149-156.
- MEHRAD, M. — LAPIERRE, H. — MAURY, Y.: Le virus de l'enroulement de la pomme de terre: purification, détection sérologique et dosage des la plante. *C. R. hebdom. Séanc. Acad. Sci.*, D 286, 1978, s. 1179-1182.
- MURAYAMA, D. — KOJIMA, M.: Antigenicity of potato leafroll virus. *Proc. Japan Acad.*, 50, 1974, s. 322-327.
- PETERS, D.: The purification of potato leafroll virus from its vector *Myzus persicae*. *Virology*, 31, 1976, s. 46-54.
- POLÁK, J. — KRÍSTEK, J.: Use of horse-radish-peroxidase labelled antibodies in ELISA for plant virus detection. *Phytopath. Z.*, 1988 (v tisku).
- PROLL, E. — RICHTER, J. — HAMANN, U. — STANARIUS, A. — EISENBRANDT, K. — SPAAR, D.: Kartoffelblatroll-Virus (potato leafroll virus): Reinigung und Herstellung von Antiseren. *Arch. Phytopath. Pfl.-Schutz*, 20, 1984, s. 1-13.
- QUANJER, H. M.: Die Nekrose des Phloems der Kartoffelpflanze, die Ursache der Blattrollkrankheit. *Meded. Landb.-Hoges. Wageningen*, 6, 1963, s. 41-80.
- ROWHANI, A. — STACE-SMITH, R.: Purification and characterization of potato leafroll virus. *Virology*, 98, 1979, s. 45-54.
- TAKANAMI, Y. — KUBO, S.: Enzyme-assisted purification of two phloem-limited plant viruses: tobacco necrotic dwarf and potato leafroll. *J. gen. Virol.*, 44, 1979, s. 153-159.
- TAMADA, T. — HARRISON, B. D.: Factors affecting the detection of potato leafroll virus in potato foliage by enzyme-linked immunosorbent assay. *Ann. appl. Biol.*, 95, 1980, s. 209-219.
- WILSON, M. B. — NAKANE, P. K.: Recent development in the periodate method of conjugating horse-radish peroxidase (HRPO) to antibodies. In: KNAPP, W. — HOLUBAR, K. — WICK, G.: *Immunofluorescence and related staining techniques*. Elsevier/North-Holland Biomed. Press, 1978, s. 215-224.

Došlo dne 17. 3. 1987

ПОЛАК, Я. — ЖАК, П. — ЙОКЕШ, М. (Научно-исследовательский институт растениеводства, Прага-Ружыне; Институт экспериментальной ботаники ЧСАН, Прага): Очистка вируса, приготовление специфических антител и диагностика вируса скручивания листьев картофеля антителами конъюгированными хреновой пероксидазой. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 9-18.

Вирус скручивания листьев картофеля (ВСКЛ) очищался из 650 г инфицированных растений *Physalis floridana* Rydb. при помощи модификации метода Таканамии и Кубо (1979). Вирус из растительных тканей освобождался энзимами целлюлазы (1%) и пектиназой (0,5%) в течение 18 часов при температуре 30 °C. Специфические антитела (ВСКЛ) для покрытия плиток были приготовлены через 33 дня в общей дозе 0,38 мг вируса, инъецированной в течение 21 дня в двух внутривенных и двух внутримышечных инъекциях. Начальные внутривенные инъекции содержали 0,06 мг вируса. Специфические антитела к ВСКЛ для конъюгирования с энзимом были приготовлены последующим иммунизированием кролика дозой 0,255 мг вируса, комбинированием внутривенной и внутримышечной инъекций 56 день. Антитела были получены 67 днем и были конъюгированы с хреновой пероксидазой. Приготовленные антитела использовались для диагностики вируса скручивания листьев картофеля в растениях картофеля сорта «Карин» и *P. floridana*. Титр ВСКЛ достигал в растениях картофеля 1:320, в растениях *P. floridana* был минимум на один градус выше. Значения поглощения здоровых проб всегда находились под 0,1.

вирус скручивания листьев картофеля; очистка вируса; целлюлаза и пектиназа; приготовление антител; конъюгирование пероксидазой из хрена; диагностика вируса; ЭЛИСА; растения картофеля

POLÁK, J. — ŽÁK, P. — JOKES, M. (Research Institute of Crop Production, Praha-Ruzyně; Institute of Experimental Botany of the Czechoslovak Academy of Sciences, Praha): Potato Leafroll Virus: its Purification, Preparation of Specific Antibodies, and Diagnosis by Antibodies Conjugated with Horse-Radish Peroxidase. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 9-18.

The potato leafroll virus (PLRV) was purified from 650 g of the infected plants of *Physalis floridana* Rydb. by modified method of Takanami and Kubo. The virus was released from the plant tissues by the enzymes cellulase (1%) and pectinase (0.5%) at 30 °C for 18 hours. The specific PLRV antibodies for coating the plates were prepared within 33 days using the total dose of 0.38 mg of the virus injected within 21 days in two intravenous and two intramuscular injections. The starting intravenous injection contained 0.06 mg of the virus. The specific PLRV antibodies for conjugation with enzyme were prepared by further rabbit immunization at the dose of 0.255 mg of the virus, combining the intravenous and intramuscular injections on the 56th day. The antibody was obtained the 67th day and was conjugated with horse-radish peroxidase. The prepared antibodies were used for the diagnosis of the potato leafroll virus in the potato plants of the 'Karin' variety and in the plants of *P. floridana*. The PLRV titre was 1:320 in the potato plants, and in the plants of *P. floridana* it was higher by at least one degree. The extinction values of the healthy samples were always below 0.1.

potato leafroll virus; virus purification; cellulase and pectinase; preparation of antibodies; conjugation with horse-radish peroxidase; virus diagnosis; ELISA; potato plants

Adresy autorů:

Ing. Jaroslav Polák, CSc., Milan Jokeš, Výzkumný ústav rostlinné výroby, 161 06 Praha 6 - Ruzyně
Ing. Petr Žák, Ústav experimentální botaniky ČSAV, Na Karlovce 1, 160 00 Praha 6 - Dejvice

ÚČINNOST FUNGICIDŮ PROTI BRANIČNATCE PLEVOVÉ [SEPTORIA NODORUM (BERK.) BERK.] A LISTOVÝM CHOROBÁM V PŠENICI OZIMÉ

M. Váňová, J. Benada

VÁŇOVÁ, M. — BENADA, J. (OSEVA — Výzkumný a šlechtitelský ústav obilnářský, Kroměříž): Účinnost fungicidů proti braničnatce plevové [*Septoria nodorum* (Berk.) Berk.] a listovým chorobám v pšenici ozimé. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 19-27.

V práci jsou uvedeny výsledky tříletého pokusu s pšenicí ozimou, v němž byla sledována účinnost vybraných fungicidů na *Septoria nodorum* a další listové choroby. Výskyt padlí travního a rzi pšeničné byl přirozený, napadení braničnatkou bylo podporováno očkováním suspenze pykno spor a mycelia houby. Bylo zjištěno, že ani umělá infekce a příhodné podmínky pro očkování (teplota a vzdušná vlhkost) nejsou zárukou toho, že bude porost napadený a vhodný pro testování fungicidů. Větší význam pro napadení měly v našich podmínkách faktory působící na růst a vývoj stresové. Výnosové ztráty byly zjištěny jak při výskytu na listech, tak v klasech. Při výskytu na listech byl aplikací Tiltu zvýšen výnos o 14,8 %, při výskytu v klasech aplikací Bayletonem triple o 19,0 %. Nejlepší účinnost měl fungicid s účinnou látkou propiconazol a jeho kombinace s účinnou látkou mancozeb a kombinované fungicidy (Bayleton triple, Tilt C 72 WP). Problematický je i termín ošetření, neboť při ošetření před metáním nelze zajistit ochranu klasu. Proto je doporučováno ošetření na začátku metání. Avšak počasí v následném období ovlivňuje stupeň napadení, škodlivost, a tím i efektivitu zásahu.

pšenice ozimá; braničnatka plevová; fungicidy; stupeň napadení; výnos zrna

Houba *Septoria nodorum* působí vážné výnosové ztráty. V některých ročnících a oblastech je její výskyt častější a škodlivost větší. V našem současném sortimentu pšenice ozimé není žádná odrůda zcela odolná (H ý s e k, T e m p í r o v á, 1985), i když jsou mezi nimi rozdíly. V roce 1986 byly silně napadeny odrůdy 'Vala', 'Selekta' a 'Košťutka'. Jejich stupeň napadení kolísal v závislosti na podmínkách, ve kterých byly pěstovány.

Rozdíly mezi odrůdami pozorovala řada autorů. J e g e r et al. (1984) si všímali především rozdílu v intenzitě sporulace, a s tím souvisejícím následným stupněm napadení. R a p i l l y et al. (1981, 1982, 1983) sledovali rozdíly v inkubační době. Prodloužení způsobilo snížení šíření choroby a vedlo k menšímu napadení a menšímu poklesu HTZ.

Na studium odrůdové citlivosti navazuje z jedné strany šlechtění na odolnost (D o u s s i n a u l t et al., 1986), z druhé strany pak aplikace fungicidů (C a u t y, E y r i e s, 1984; F e h r m a n n, A h r e n s, 1984), neboť je třeba pro náchylné odrůdy rozpracovat i alternativu chemické ochrany.

MATERIÁL A METODY

Pro testování účinnosti fungicidů proti braničnatce plevové byla vybrána v letech 1983 a 1984 odrůda 'Košutka' a v roce 1985 odrůda 'Roxana'. Tyto odrůdy bývají z povoleného sortimentu pšenice v podmínkách Kroměříže nejvíce napadeny braničnatkou.

Pokusy byly založeny po předplodiné řepce na parcelkách o velikosti 10 m² ve čtyřech opakováních párovou metodou. Agrotechnická opatření byla prováděna podle pěstební technologie (Lekeš et al., 1984).

Abychom napadení zvýšili a zajistili pravidelný výskyt choroby, prováděli jsme očkování pšenice suspenzí pykno spor a mycelia houby v koncentraci 25 pykno spor na mm³, kmenem V 11 Ruzyně, který produkuje mikropyknidy a mikrospory. Očkování porostu bylo prováděno ve všech letech zádobou stříkačkou. Ošetření fungicidy následovalo za dva až čtyři dny.

Hodnocení účinnosti fungicidů proti jednotlivým chorobám bylo ztíženo tím, že na pšenici se vedle braničnatky vyskytovaly i padlí a rzi. V pokusech byl hodnocen stupeň výskytu padlí a rzi odhadem procenta napadené plochy listových čepelí několikrát během vegetace (James, 1971). Napadení braničnatkou bylo hodnoceno stupnicí 1—9. Dále byla zjišťována HTZ a výnos zrna na ha a procento uschlé listové plochy. HTZ byla do roku 1984 stanovována ze zrna sklizeného kombajnem, v roce 1985 ze vzorků klasů vymláčených na klasové mlátičce.

Použité přípravky, výrobce a použité dávky jsou uvedeny v tab. I.

VÝSLEDKY

Rok 1983 (tab. II)

Braničnatka plevová

Očkování suspenzí spor a mycelia bylo provedeno koncem května v době těsně před metáním. Infekce proběhla na horních dvou listech, kde se v průběhu června objevily hnědé protáhlé skvrny způsobené chorobou. V důsledku suchého počasí se choroba nerozšířila do klasů. Hodnocení biologického účinku se tedy týká jen napadení listů, především praporcového listu. Nejlepší účinek měl přípravek Tilt buď samotný, nebo v kombinaci s Dithanem a captafolem. Dobrý účinek měl i Dyrene. Nedostatečný účinek měl Dithane i jeho kombinace s dalšími fungicidy jako je Bayleton nebo Fundazol. Špatná účinnost Dithane na braničnatku se prokázala i v pokusech s kultivací houby na agarové živné půdě.

Ostatní choroby

Koncem dubna se objevilo padlí travní, které se během května rozšířilo i na praporcové listy. Fungicidy byly aplikovány z hlediska padlí pozdě (27. 5.). Padlí bylo rozšířeno silně na třetím listu a na nižších listech, což urychlilo jejich zasychání. Rozdíly v pokryvnosti padlím čtvrtého, ale i třetího listu je třeba připisovat variabilitě napadení (hodnocení koncem května). Při hodnocení v polovině června lze vzít v úvahu jen napadení praporcového listu, z části druhého listu shora.

Nejvíce potlačila padlí kombinace přípravku Bayleton + Dithane v důsledku velmi dobrého účinku triadimefonu, dále Bayleton triple, Tilt a kombinace Tiltu s Dithane.

Rozvoj rzi pšeničné nastal začátkem června a v druhé polovině června byl první list na neošetřených rostlinách silně napaden. Rez potlačily nejvíce fungicidy Tilt a Bayleton, oba v kombinaci s Dithanem. Také ostatní kombinace byly účinné.

I. Použité přípravky — A list of fungicides

Přípravek	Dávka na ha	Účinná látka a její obsah	Výrobce
Bayleton 25 WP	0,5 kg	25% triadimefon	Bayer, NSR
Bayleton triple	2 kg	6,25% triadimefon 10% carbendazim 40% captafol	Bayer, NSR
Dithane M 45	2 kg	80% mancozeb	Rohm a Haas, Rakousko
Dyrene	4 l	480 g/l anilazin	Bayer, NSR
Fundazol	0,5 kg	50% benomyl	Chinoin, MLR
EL 228	0,5 l	6% nuarimol	Elanco, USA
Rovral 50 WP	0,5 kg	50% iprodione	Rhone - Poulenc, Francie
Síra 80 WP	5 kg	80% síra	Sojuzchimexport, SSSR
Sportak 45 EC	2 l	45% prochloraz	FBC, Anglie
Impact 125 EC	1 l	125 g/l flutriafol	ICI, Anglie
DPX H 6573 (Punch)	0,25 l	250 g/l flusilazol	Du Pont, USA
Saprol	1 l	200 g/l triforin	Celamark, NSR
Tilt 250 EC	0,5 l	250 g/l propiconazol	Ciba-Geigy, Švýcarsko
Tilt C 72 WP	1 kg	12,5% propiconazol 60% captafol	Ciba-Geigy, Švýcarsko
EL 2871 SC	1 l	6% nuarimol 60% chlorothalonil	Elanco, USA

Výnosové hodnocení bylo vztaženo ke všem chorobám, které se v porostu vyskytovaly. Nejvyšší zvýšení výnosu bylo docíleno po aplikaci přípravků s účinnou látkou propiconazol a captafol (+ 15 %). Tato kombinace potlačila především bráničnatku a rez pšeničnou. Tilt samotný i jeho kombinace s Dithanem zvýšily výnos o 14 až 15 %. Úspěšná byla i kombinace Bayleton + Dithane. Nejmenší vliv na výnos měl Dithane samotný a jeho kombinace s Fundazolem. Nejpriznivěji ovlivnila HTZ kombinace Tilt + Dithane, Tilt + Tilt, Bayleton + Dithane a samotný Tilt.

Rok 1984 (tab. III)

K rozvoji bráničnatky plevové došlo během květu pšenice ozimé jen na listech, a to v nízkém stupni. Naproti tomu se v porostu vyskytlo padlí travní a v menším stupni i rez pšeničná.

Fungicidy byly aplikovány začátkem června (6. 6.) a účinek fungicidů na padlí a ostatní listové choroby byl hodnocen začátkem července. Napadení bylo poměrně malé. Fungicidy Bayleton a Tilt 250 EC a kombinace jiných fungicidů s nimi snížily napadení nejvíce. Rostliny ošetřené těmito fungicidy si uchovaly poměrně dlouhou dobu tmavěji zelenou barvu listů.

Průkazné zvýšení výnosu bylo dosaženo po aplikaci fungicidů Bayleton, Bayleton triple, Tilt C 72 WP, Tilt 250 EC + Dithane M 45 a Sportak.

II. Hodnocení výskytu chorob a účinnosti fungicidů v roce 1983 — Evaluation of the occurrence of the diseases and the effectiveness of fungicides in 1983

Varianta	Pořadí hodno- cených listů od vrchu	Padlí travní hodno- ceno 14. 6. růstová fáze 69	Rez pšeničná hodno- ceno 23. 6. růstová fáze 85	Procento uschlé listové plochy* hodno- ceno 23. 6. růstová fáze 85	Výnos (t. ha ⁻¹)	Výnosová diference oproti kontrolě (v %)	Hmotnost 1000 zrn (v g)
		procento napadené listové plochy					
Dyrene	1	3	11	28			
	2	8		92			
Kontrola	1	6	7	49			
	2	9		91			
Bayleton triple	1	2	2	24			
	2	4		62			
Dithane M 45	1	6	11	54	7,6	4,3	31,9
	2	10		96			
Kontrola	1	5	20	42	7,2		29,8
	2	9		95			
Tilt 250 EC	1	2	10	17	8,3	14,8 ⁺	34,3
	2	9		89			
Fundazol + Dithane M 45	1	7	8	53	7,8	4,4	34,2
	2	10		92			
Kontrola	1	5	20	42	7,5		31,4
	2	9		95			
Tilt 250 EC + Tilt C 72 WP	1	2	11	17	8,6	15,4 ⁺	35,5
	2	7		91			
Bayleton + Dithane M 45	1	1	8	43	8,1	12,3 ⁺	34,4
	2	4		99			
Kontrola	1	5	20	42	7,3		30,9
	2	9		95			
Tilt 250 EC + Dithane M 45	1	4	6	14	8,3	14,3 ⁺	35,4
	2	6		74			

* = v důsledku výskytu bráničnatky

Rok 1985 (tab. IV)

I když porosty byly očkovány bráničnatkou plevovou a bylo velmi příznivé počasí pro infekci (teplo a vlhko), přesto byly během června napadeny jen listy. K napadení klasů došlo až v červenci. V polovině července bylo napadení kontrol velmi silné. Nejlepší fungicidní působení měly fungicidy Impact a Tilt C 72 WP a také Bayleton triple. Padlí travní se vyskytovalo jen v nízkém stupni.

Nejlepší výnosový efekt měl Bayleton triple (19 %). Po aplikaci kombinace fungicidů Tilt 250 EC + Tilt C 72 WP, Impact + Tilt C 72 WP a samotného Tiltu 250 EC byl výnos rovněž průkazně zvýšen (do 10 %).

V době zralosti byly ručně sklizeny kytice klasů (4 × 100 ks klasů) a vymláceny na klasové mlátičce. Hmotnost 1000 zrn je v dobré korelaci s hodnocením stupně napadení bráničnatkou plevovou v klasech a hmotností zrna z klasu (tab. V).

Varianta	Padlí travní hodnoceno 9. 7., růstová fáze 75			Předčasné dozrávání listů* hodnoceno 10. 7.	Výnos v t. ha ⁻¹	Výnosová diference oproti kontrolě (v %)	Hmotnost 1000 zrn (v g)
	procento napadené listové plochy						
	pořadí listů od vrchu						
	1	2	3				
Bayleton + Dithane M 45	1	0	3	3	9,8	+ 5,2	37,6
Kontrola	1	3	5	2	9,3		36,9
Tilt 250 EC	0	2	4	2	9,7	+ 4,8	37,2
Bayleton tripl	1	1	0	2	10,0	+16,5 ⁺⁺	37,6
Kontrola	1	3	5	2-3	8,6		35,1
Tilt C 72 WP	1	2	0	2-3	9,8	+13,6 ⁺⁺	38,7
Bayleton	1	1	s	2	9,1	+14,2 ⁺⁺	36,7
Kontrola	1	3	5	3	7,9		35,3
Tilt 250 EC + Dithane M 45	1	1	7	2	9,3	+15,9 ⁺	36,3
Dyrene	1	2	7	2-3	9,8	+ 6,1 ⁺	40,0
Kontrola	1	5	s	4	9,3		37,6
Impact 125 EC	4	4	s	3	9,9	+ 7,5	39,7
Sportak	2	2	s	3-4	9,5	+12,7 ⁺	39,4
Kontrola	1	5	s	3-4	8,4		33,3
Síra 80 WP	2	5	s	3-4	8,7	+ 4,2	33,3
Rovral 50 WP	2	3	s	2-3	8,6	+ 8,3 ⁺	36,5
Kontrola	1	5	s	3	8,1		35,7
EL 228	ž	ž	s	3-4	8,3	+ 2,8	34,0

* Stupeň zežloutnutí byl hodnocen touto stupnicí: 1 = celý list zelený s = suchý
 2 = 1/4 listu žlutá ž = žlutý
 3 = 1/2 listu žlutá
 4 = 3/4 listu žlutých
 5 = celý list žlutý

DISKUSE

Dosáhnout vysokého napadení braničnatkou v podmínkách Kroměříže je problematické. Přirozený výskyt je nepravidelný a napadení jednotlivých odrůd v různých letech kolísá v závislosti na změnách polní odolnosti. Ani umělá infekce a příhodné podmínky pro očkování (teplota, vzdušná vlhkost) nejsou zárukou toho, že bude porost napadený a bude vhodný pro testování fungicidů. Větší význam pro napadení měly v našich podmínkách faktory působící na růst a vývoj stresově.

IV. Hodnocení výskytu chorob a účinnost fungicidů v roce 1985 — Evaluation of the occurrence of the diseases and the effectiveness of fungicides in 1985

Varianta	Padlí travní hodnoceno 17. 6., růstová fáze 69				Braničnatka plevová a černě v klase*	Výnos (t. ha ⁻¹)	Výnosová diference oproti kontrolě (v %)
	procento napadené listové plochy						
	pořadí listů od vrchu						
	1	2	3	4			
Bayleton + Dithane M 45	0	1	1	1	4	8,1	—
Kontrola	1	1	3	3	1	8,1	—
Bayleton + Dyrene	0	1	1	2	6	8,3	+ 2,4
Bayleton triple	0	1	1	1	7	9,1	+19,0 ⁺
Kontrola	1	1	4	8	1	7,6	
DPX H 6573	0	0	1	2	6	8,3	+ 8,9
Tilt 250 EC + Dithane M 45	1	1	2	3	4	8,6	+ 8,1
Kontrola	1	2	3	7	1	7,9	
Tilt 250 EC + Tilt C 72 WP	0	1	2	3	6	8,8	+ 9,7 ⁺
Tilt 250 EC	0	1	2	3	4	8,4	+ 8,6
Kontrola	1	2	3	5	1	7,8	
EL 2871	1	2	3	4	5	8,5	+ 1,1
Impact 125 EC	0	1	1	2	5	8,4	+ 1,1
Kontrola	1	2	3	4	1	8,3	
Impact 125 EC + Tilt C 72 WP	0	1	1	1	7	8,9	+ 7,2 ⁺
Saprol	1	2	2	4	2	8,0	+ 4,4 ⁺
Kontrola	1	2	4	7	1	7,7	
Rovral	1	1	4	4	3	8,0	+ 4,4 ⁺
Sportak	0	1	3	5	5	—	—
Fundazol + Dithane M 45	0	1	4	5	3	—	—

* = hodnoceno stupnicí 1–9, 1 = 100 % napadení

Podíl chorob v klasě: 1/4 klasu napadena padlím a černěmi

3/4 klasu napadeny braničnatkou plevovou

Náchylnost klasů pšenice k braničnatce se mění podle jejich ontogenetického stáří, což dokázali Aust a Hau (1983). Obst (1980) prokázal, že stárnutí pletiv klasů probíhá v různých letech různě rychle, a tím se mění i optimální doba pro případné očkovaní. Ranější odrůdy jsou napadány dříve, pozdnější později.

Stárnutí pletiv lze urychlit mechanickým nebo chemickým poškozením rostlin v rannějších růstových fázích, které vede k nižšímu růstu

V. Vliv aplikace fungicidů na napadení klasů pšenice ozimé odrůdy 'Roxana' braničnatkou plevovou na hmotnost zrna a hmotnost zrna na klas v roce 1985 — The effect of fungicide treatment on the ear infection of the Roxana variety of winter wheat with glume blotch, on grain weight, and on the grain weight per ear in 1985

Varianta	Stupeň napadení 16. 7.	Hmotnost 1000 zrn		Hmotnost zrna na klas	
		v g	v %	v g	v %
Bayleton + Dyrene	6	43,5	112	1,38	121
Impact 125 EC + Tilt C 72 WP	7	44,2	114	1,45	127
Bayleton triple	7	44,5	115	—	—
Kontrola	1	38,8	100	1,14	100
DPX H 6573	6	41,7	108	1,18	104

roślin. Tento fakt lze pozorovat např. na rostlinách polehlých či přitlačených koly traktory, nebo poškozených herbicidy.

Jak uvádí Obst (1980), pletiva klasů se stávají náchylnými za 17 až 21 dní po metání, což je v korelaci s našimi výsledky z roku 1985.

Na inkubační době (od očkování do tvorby pykno spor) se podílí z 45 % teplota, z 12 % množství očkovacího materiálu, ze 3 % ovlhčení listu a ze 40 % se podílí rozdílná náchylnost odrůd podle ontogenetického stáří a jiné faktory (Aust, Hau, 1981). Ontogeneticky podmíněná odolnost má tedy velký význam. Inkubační doba u pšenice jarní se zkracuje se zvyšujícím se stářím listů (Aust, Hau, 1983). Inkubační doba během metání je 11 až 14 dní při teplotě 16–18 °C, naproti tomu na mrtvých listech se zkracuje doba až na čtyři dny.

Velký význam má i intenzita sporulace, jak dokázali Jeger et al. (1984), která je ovlivňována nejen podmínkami vnějšího prostředí, ale i odrůdou a jejím ontogenetickým vývojem. Autoři zjistili vyšší produkci spor na listech než na klasech, ale rozdílně u různých odrůd, s čímž souvisí i škodlivost choroby. Avšak o vlivu vnějších podmínek na rezistenci odrůdy, která je daná odlišností ve vývojových stádiích rostliny, je doposud málo údajů.

Mezi nejúčinnější fungicidy proti braničnatce patří fungicid s účinnou látkou captafol, proti nimž jsou však výhrady a jeho použití je omezeno. Dobré výsledky byly získány s aplikací chlorothalonilu (Jarrett, Allard, 1981). Velmi dobrý je Sportak a Tilt a kombinované přípravky. Naproti tomu fungicid s účinnou látkou mancozeb (King et al., 1983) zvýšil účinnost jen o několik procent, což je v souladu s našimi výsledky s fungicidem Dithane M 45.

Braničnatka plevová působí značné výnosové ztráty jak při výskytu na listech, tak v klase. Stupeň napadení je ovlivňován vnějšími podmínkami, které se podílí na změnách ontogenetického stáří listů a klasů a ontogeneticky podmíněná odolnost převládá. Chemická ochrana je komplikována několika okolnostmi. Žádný z fungicidů, které lze v současné době použít v zemědělské praxi, není úplně účinný a navíc při ošetřování před metáním není záruka, že bude před chorobou chráněn i klas. Ve většině případů je jako nejvhodnější termín doporučováno ošetření na začátku metání. Problémem zůstává, že počasí v následném období ovlivňuje stupeň napadení, škodlivost, a tím i efektivnost zásahu.

- AUST, H. J. — HAU, B.: Einfluß kompensatorischer Wirkungen auf die Dauer der Latenzzeit von *Septoria nodorum*. Z. Pfl.-Krankh. Pfl.-Schutz, 88, 1981, s. 655-664.
- AUST, H. J. — HAU, B.: Die Latenzzeit von *Septoria nodorum* in Abhängigkeit von der ontogenetisch bedingten Anfälligkeit des Sommerweizens. Z. Pfl.-Krankh. Pfl.-Schutz, 91, 1983, s. 55-62.
- BENADA, J.: Tolerance parazitních hub obilnin k fungicidům. In: Sbor. Konf. Ochr. Rostl., Brno 1986, s. 302-304.
- CAUTY, Y. — EYRIES, G.: Efficacité des „Impact“ sur les maladies des céréales. Déf. Vég., 38, 1984, č. 226, s. 86-92.
- DOUSSINAULT, G. — JAHIER, J. — LUENS, H. — TROTTET, M.: Glume blotch. A. Wheat Newslett., 32, 1986, s. 66-68.
- FEHRMANN, H. — AHRENS, W.: Weizenbefall durch *Septoria nodorum* und Ährenfusariosen. II. Spritzanwendung kurativer wirksamer Fungizide. Z. Pfl.-Krankh. Pfl.-Schutz, 93, 1984, s. 113-121.
- HÝSEK, J. — TEMPIROVÁ, Z.: Studium rezistence (tolerance) ozimé pšenice k braničnatce plevové (*Septoria nodorum* Berk.). In: Sbor. III. ved. Konf. Ochr. Obiln. Piešťany 1985, s. 118-126.
- JAMES, W. C.: An illustrated series of assessment keys for plant diseases, their preparation and usage. Can. Pl. Disease Surv., 51, 1971, č. 2, s. 39-65.
- JARRETT, G. A. — ALLARD, P. M.: Control of *Septoria* sp. in winter wheat with chlorothalonil. In: Proc. Brit. Crop Prot. Conf., Brighton 1981, s. 259-266.
- JEGER, M. J. — JONES, D. G. — GRIFFITHS, E.: Sporulation of *Septoria nodorum* (and *S. tritici*) on spring wheat cvs. Kolibri and Maris Butler in relation to growth stage, plant part and time of season. Ann. appl. Biol., 104, 1984, s. 31-39.
- KING, J. E. et al.: A review of *Septoria* diseases of wheat and barley. Ann. appl. Biol., 103, 1983, s. 345-373.
- LEKEŠ, J. a kol.: Technologie pěstování a agrobiologická kontrola porostů obilovin. Met. Zavád. Výsl. Výzk. Praxe, 1984, č. 20, 33 s.
- OBST, A.: In search of a simple method for the prognosis of *Septoria nodorum* glume blotch of wheat. Protec. Ecol., 2, 1980, s. 275-279.
- RAPILLY, F. — AURIAU, P. — LABORIE, Y.: Resistance partielle du blé, à *Septoria nodorum* Berk. — Etude du temps d'incubation. Agronomie (Versailles), 1, 1981, č. 9, s. 771-782.
- RAPILLY, F. — AURIAU, P.: Resistance partielle du blé à la septoriose. Période d'incubation, extension des lésions, poids des 1000 grains. La sélection des plantes pour la résistance aux maladies. Colloq. franco-israélien Bordeaux, 1982, s. 119-124.
- RAPILLY, F. — AURIAU, P. — LABORIE, Y. — DESPATUREAUX, C.: Resistance partielle du blé à *Septoria nodorum* Berk. Agronomie (Versailles), 1983, č. 1, s. 89.

Došlo dne 12. 12. 1986

ВАНЬОВА, М. — БЕНАДА, Я. (ОСЕВА — Научно-исследовательский и селекционный институт зерновой, Кромержиж): Действенность фунгицидов против септориозу сорняков [*Septoria nodorum* (Berk.) Berk.] и болезням листьев у озимой пшеницы. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 19-27.

В работе приведены результаты трехлетнего опыта с озимой пшеницей, в котором наблюдалась действенность фунгицидов на *Septoria nodorum* и других болезнях листьев. Наличие травяной гнили и ржавчины линейной было естественное, нападение септориозом поддерживалось прививкой суспензии пикностпор и гребницы гриба. Было установлено, что не искусственная инфекция и случайные условия для прививки (температура и влажность воздуха) не являются гарантией того, что будет растительность нападена и удобна для тестирования фунгицидов. Намного большее значение в наших условиях было у факторов влияющих на рост и развитие действием стресса. Потери урожайности были определены как при наличии на листьях, так и колосьях. При наличии на листьях была применением Тилта повышена урожайность на 14,8%, при наличии в колосьях применением Bailetonem triple на 19,0%. Самой лучшей действенностью обладал фунгицид с действенным веществом пропиконазол и его комбинацией с фунгицидами с действенным веществом или манкосеб с комбинированными фунгицидами (Bailetonem triple, Tilt C 72 WP). Проблематичным является время обработки, т.к. во время обработки перед колошением нельзя обеспечить защиту колоса. Поэтому предлагается обработка в начале колошения. Но все-таки погода во

время последующего периода влияет на степень нападения, вредность, а тем и на эффективность действия.

озимая пшеница; септориоз сорняков; фунгициды; степень нападения; урожайность зерна

VÁŇOVÁ, M. — BENADA, J. (OSEVA — Research and Breeding Institute of Cereal Growing, Kroměříž): *The Effectiveness of Fungicides in the Control of Glume Blotch [Septoria nodorum (Berk.) Berk.] and Leaf Diseases of Winter Wheat*. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 18-27.

The results of a three-year trial with winter wheat are presented. The aim of the trial was to study the effectiveness of selected fungicides in the control of *Septoria nodorum* and other leaf diseases. The occurrence of powdery mildew and leaf rust of wheat was natural while the infection with glume blotch was supported by inoculation with the pycnosporous and mycelium of the fungus. It was found out that neither could artificial infection nor favourable conditions for inoculation (temperature and air humidity) guarantee that the stand would be infected and suitable for fungicide testing. Stress factors, affecting the growth and development, had a greater importance for disease infection under Czechoslovak conditions. Yield losses were recorded no matter where the fungus occurred: on the leaves or in the ears. When the leaves were infected, Tilt application increased the yield by 14.8 %, and when the infection occurred in the ears, the application of Bayleton triple increased the yield by 19.0 %. The highest effectiveness was recorded in the fungicide containing propiconazole as its active ingredient and its combinations with fungicides based on mancozeb as the active ingredient, and in the combined fungicides (Bayleton triple, Tilt C 72 WP). The time of treatment remains a problem because the protection of the ear cannot be secured when the stand is treated before heading. It is therefore recommended to treat the plants early in the heading stage. However, the weather prevailing during the subsequent period influences the degree of infection, the harmful action, and hence the effectiveness of treatment. winter wheat; glume blotch; fungicide; degree of infection; grain yield

VÁŇOVÁ, M. — BENADA, J. (OSEVA — Forschungs- und Züchtungsinstitut für Getreidebau, Kroměříž): *Wirksamkeit von Fungiziden gegen Septoria nodorum-Blattfleckenkrankheit und andere Blattkrankheiten von Winterweizen*. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 18-27.

In der Arbeit werden Ergebnisse eines dreijährigen Versuchs mit Winterweizen wiedergegeben, in denen die Wirksamkeit ausgewählter Fungizide gegen *Septoria nodorum* und weitere Blattkrankheiten verfolgt wurde. Das Vorkommen von echtem Getreidemehltau und Braunrost war natürlichen Ursprungs, während der Befall durch *Septoria nodorum* durch Impfung mit einer Pykno-sporen- und Myzelium-suspension des Pilzes unterstützt wurde. Es wurde festgestellt, daß selbst die künstliche Infektion und für die Impfung günstige Bedingungen (Temperatur und Luftfeuchtigkeit) keine Garantie bieten, daß der Bestand tatsächlich befallen und für die Testung der Fungizide geeignet sein wird. Von größerer Bedeutung für den Befall erwiesen sich unter unseren Bedingungen die auf das Wachstum und die Entwicklung streßartig wirkenden Einflüsse. Ertragsverluste wurden beim Vorkommen sowohl auf Blättern als auch in den Ähren verzeichnet. Bei dem Vorkommen auf Blättern wurde mittels Applikation von Tilt der Ertrag um 14,8 % erhöht, beim Vorkommen den Ähren durch Applikation von Bayleton triple um 19,0 %. Die beste Wirksamkeit erwies das Fungizid mit dem Wirkstoff Propiconazol und seine Kombination mit Fungiziden mit den Wirkstoffen Captfol oder Mancozeb sowie kombinierte Fungizide (Bayleton triple, Tilt C 72 WP). Als problematisch zeigt sich auch der Behandlungstermin, da sich bei der Applikation vor dem Ährenschieben ein Schutz der Ähre nicht sicherstellen läßt. Deswegen wird auch die Applikation zum Zeitpunkt des Beginns des Ährenschiebens empfohlen. Der Witterungsverlauf im folgenden Zeitraum beeinflusst allerdings den Befallsgrad, die Schädlichkeit und dadurch auch die Effektivität der Behandlung.

Winterweizen; *Septoria nodorum*-Blattfleckenkrankheit; Fungizide; Befallsgrad; Kornertrag

Adresa autorů:

Ing. Marie Váňová, CSc., ing. dr. Jaroslav Benada, CSc., OSEVA — Výzkumný a šlechtitelský ústav obilnářský, 767 41 Kroměříž

XI. CELOSTÁTNÍ KONFERENCE OCHRANY ROSTLIN — NITRA 1988

Odbor ochrany rostlin Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Praze-Ruzyni uspořádá ve spolupráci s katedrou šlachtenia a ochrany rastlín VŠP v Nitre v pořadí již XI. celostátní konferenci ochrany rostlin. Konference se koná ve dnech 6. až 8. září 1988 na Vysoké škole zemědělské v Nitre. Cílem konference je umožnit setkání všech zainteresovaných pracovníků z vysokých škol, výzkumných ústavů i zemědělské praxe. Jednání bude probíhat v sekcích mykologie, entomologie, virologie, herbologie a chemická ochrana proti chorobám a škůdcům, včetně použití růstových regulátorů. Účastníci konference dostanou vytištěný sborník souhrnných referátů. Pořadatelé žádají všechny přednášející, aby vzhledem k omezenému času (10 minut) ve svém referátu vyšli z údajů dostupných všem účastníkům ve sborníku a problematiku dále doplnili a rozšířili. Tím se vyhnou situaci, kdy by pouze opakovali účastníkům již známé skutečnosti. Naopak mají možnost své sdělení obsahově rozšířit.

Pořadatelé rozeslali pozvánky řadě pracovníků výzkumu i praxe, jejichž adresy měli k dispozici. Tímto oznámením zveme dále především pracovníky zemědělské praxe a všechny ostatní zájemce o ochranu rostlin. Zvláště nás potěší, jestliže naše pozvání přijmou i ti, kteří ukončili řádný pracovní poměr. Abychom jim účast usnadnili, nevžadujeme od nich zaplacení vložného. Je však třeba, aby nás na tuto skutečnost dopisem upozornili. Obracíme se s prosbou na všechny, aby na konání konference upozornili i ty, kterým se tato informace nedostane do rukou.

Příhlášky na konferenci a další informace je možné si vyžádat u sekretáře konference na adrese:

Ing. Jiří Oliberius, CSC.,
Výzkumný ústav rostlinné výroby
161 06 Praha 6 - Ruzyně

POPULÁCIE CERKOSPÓRY REPOVEJ (*CERCOSPORA BETICOLA* SACC.) NA SLOVENSKU

D. Brillová

BRILLOVÁ, D. (Ústav experimentálnej fytopatológie a entomológie, Ivanka pri Dunaji): *Populácie cercospóry repovej (Cercospora beticola Sacc.) na Slovensku*. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 29-38.

Na štruktúre lokálnych populácií cercospóry repovej v agroceňozách Slovenska sa podieľa šesť variantov. Získali sa ako monospórové izoláty zo 47 lokalít a boli charakterizované ako vnútrodrohové jednotky variability s odlišnými farebnými vlastnosťami *in vitro* a rozdielnou agresivitou *in vivo*. Podľa frekvencie rôzne agresívnych variantov sa zistili tri typy lokálnych populácií: 1. s prevahou tmavosivých vysokoagresívnych variantov, 2. s prevahou sýto-sivozeleného strednoagresívneho variantu, 3. bez výraznej prevahy boli zastúpené hlavne slaboagresívne varianty. Stupeň agresivity variantov a ich kvantitatívne zastúpenie ovplyvňuje fytopatogénny potenciál populácie. Rôzne agresívne varianty tvoria základ heterogénnej štruktúry populácií. *In vitro* na pôvodných izolátoch vznikali aj sektorovaním kolónií. Diskutujú sa mechanizmy tvorby variantov.

stupeň agresivity; tvorba variantov; fytopatogénny potenciál populácie

Široké zastúpenie cercospóry repovej v agroceňozách rôznych klimatických podmienok je reprezentované populáciami, ktoré poskytujú obraz o biologickej realizácii druhu v priestore a čase. Pretože ide o parazitickú hubu, všetky jedince populácie sa vo všeobecnosti vyznačujú jednou spoločnou vlastnosťou — patogenitou, môžu sa však líšiť mnohými inými vlastnosťami, čo zapríčiňuje heterogenitu populácií. Heterogenita a mechanizmy zodpovedné za pochody, ktoré ju spôsobujú, sú predmetom záujmu odborníkov, pretože majú veľký praktický význam a súvisia s ochranou rastlín.

Štruktúra populácií cercospóry repovej sa zakladá na nepohlavnom spôsobe rozmnožovania, čo súvisí s jej systematickým zatriedením do skupiny húb nedokonalých — *Fungi imperfecti*. Je všeobecne známe, že nedokonalé huby sa vyznačujú vysokým stupňom genetickej premenlivosti. V predchádzajúcej práci (Brillová, 1987) sme sa preto venovali štúdiu vnútrodrohovej rôznorodosti cercospóry repovej, pričom sa zistilo, že na Slovensku ju reprezentuje šesť variantov. Získané výsledky boli podnetom k prešetrovaniu významu identifikovaných variantov z hľadiska populácií patogéna. Predložená práca nadväzuje na tieto výsledky a jej cieľom bolo zistiť podiel variantov s rôznym stupňom agresivity na štruktúre lokálnych populácií a ich vplyv na fytopatologický potenciál populácií.

Termín populácia má v biológii rôzne definície (Majr, 1974; Timofeev-Resovskij et al., 1973; Zavadskij, 1968). Populácia fytopatogénnych húb, obzvlášť húb rozmnožujúcich sa nepohlavne, má špecifickú obsahovú náplň, ktorú najlepšie vystihujú v svojej definícii Kvítko (1974), Uiljanson (1975) a Pečurkin (1978). V predloženej práci budeme používať termíny prírodná lo-

kálna populácia vo význame vnútrodrohová štruktúrna jednotka s určitými zákonitosťami vzájomných vzťahov, ktorá zahŕňa súbor jedincov daného druhu na určitom mieste.

MATERIÁL A METÓDY

Prírodné lokálne populácie cerkospóry repovej sme študovali podľa kultúrnych a fyziologických vlastností monospórových izolátov. Za týmto účelom sme z infikovaných listov cukrovej repy, zbieraných na 47 lokalitách Slovenska, vyizolovali 4700 monospórových izolátov. Konidiový materiál na izolácie bol odoberaný z viacerých miest lokálneho porastu cukrovej repy a monospórové izolácie sme robili z priemernej konidiovej vzorky každej lokality.

Na monospórové izolácie a ďalšie kultivácie sme použili zemiakovú-glukózovo-agarovú pôdu (ZGA). Na nej sme sledovali vizuálne kultúrne charakteristiky kolónií. Na hodnotenie sporulácie sme použili špeciálnu sporulačnú pôdu pripravenú z extraktu listov cukrovej repy. Okrem toho sme sledovali agresivitu izolátov. Vyjadřili sme ju dĺžkou inkubačného obdobia a intenzitou infekcie po umelej inokulácii hostiteľa. Na umelé inokulácie sme použili osemtyždňovú repu cukrovú náchylnej odrody 'Dobrovická A' (DA) a rezistentných odrôd 'Maribo Monova C.R. 1' a 'Maribo Monova C.R. 2', pestované v skleníkových podmienkach. Z každej odrody sme inokulovali konidiovou suspenziou patričného variantu po 30 jedincov. Na každú rastlinu sa aplikovalo rovnaké množstvo konidiovej suspenzie o hustote 6000 konidií na ml.

Ošetrované repy sme umiestili vo vlhkých komorách s 98–100% relatívnou vlhkosťou vzduchu a teplotou +23 až 25 °C. Pokus mal tri opakovania, pričom v každom opakovaní sme na inokuláciu použili izolát toho istého variantu, avšak pochádzajúci z inej lokality. Z dosiahnutých výsledkov sme robili priemery charakterizujúce tenkové varianty.

Zbery konidiového materiálu na monospórové izolácie s cieľom charakterizovať lokálne populácie sme robili v prvej dekáde septembra 1984. Preto charakteristika opísaných populácií sa vzťahuje na toto obdobie. Pri charakterizovaní lokálnych populácií sme spracovali druhové spektrum variantov a frekvenciu ich výskytu na jednotlivých lokalitách.

Pri hodnotení zdravotného stavu porastov repy cukrovej, z ktorých sme odoberali vzorky na monospórové izolácie, sme použili stupnicu 0–5 (0 = bez prejavu infekcie a 5 = odumieranie celých listov).

Charakteristiku variantov podľa vlastností monospórových izolátov detailne rozpracovala Brillová (1987), preto sa v kapitole výsledky uvádza iba stručne, ako si vyžaduje zameranie tejto práce.

VÝSLEDKY

Charakteristika variantov

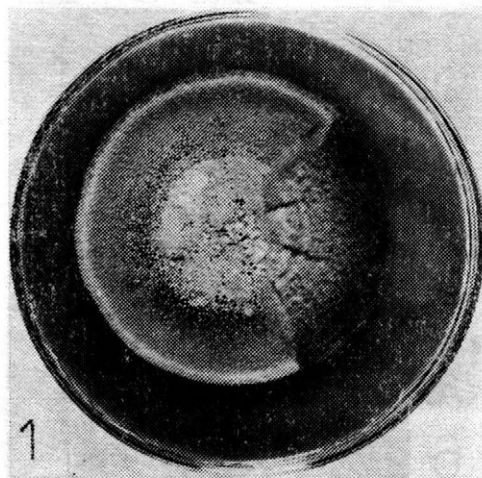
Podľa vizuálnych charakteristík 4700 monospórových izolátov kultivovaných na ZGA pôde sme zistili, že cerkospóra repová sa vyskytuje v agroekologických podmienkach Slovenska v šiestich variantoch, ktoré sa líšia *in vitro* hlavne podľa sfarbenia vzdušného mycélia a substrátu. Sú to varianty: 1. tmavosivý, 2. tmavosivozelený, 3. popolavosivý, 4. sýto-sivozelený, 5. svetlosivozelený a 6. bielosivozelenkastý (Brillová, 1987).

Okrem uvedených vizuálnych charakteristík sa zistila pozitívna korelácia medzi intenzitou sfarbenia kolónií variantov *in vitro* a ich agresivitou. Tmavé varianty — tmavosivý a tmavosivozelený sa na troch testovaných odrodách repy cukrovej (náchylná odroda 'Dobrovická A' a rezistentné odrody 'Maribo Monova CR 1' a 'Maribo Monova CR 2') javili ako najagresívnejšie. Mali preukazne kratšie inkubačné obdobie a vyvolali preukazne vyšší stupeň infekcie ako varianty svetlé. Okrem toho produ-

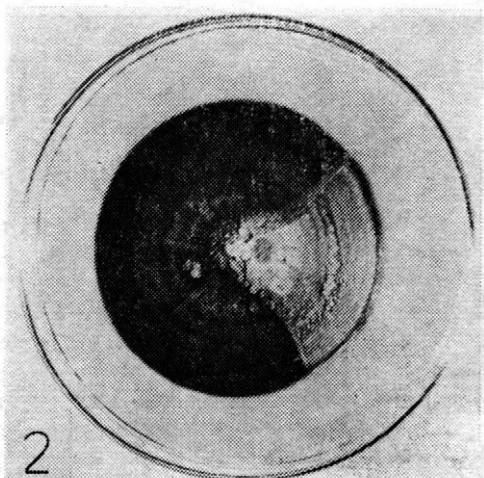
kovali podstatne väčšie množstvo propagúl ako svetlé varianty (Brillová, 1987). Preto sme ich označili ako varianty vysokoagresívne. Najnižšiu agresivitu vykazovali varianty svetlé, t. j. svetlosivozelený a bielosivozelenkastý, s najvyššími hodnotami dĺžky inkubačného obdobia a najnižšími hodnotami stupňa intenzity infekcie. Mali najnižšiu, veľmi nízku sporuláciu (Brillová, 1987). Podľa týchto vlastností sme ich charakterizovali ako varianty slaboagresívne. Varianty popolavosivý a sýtosivozelený, ako podľa vizuálnych, tak podľa fyziologických charakteristík, predstavujú akýsi prechodný stupeň medzi variantami tmavými (t. j. tmavosivým a tmavosivozeleným) a svetlými (t. j. svetlosivozeleným a bielosivozelenkastým). Podľa hodnôt sledovaných ukazovateľov (dĺžky inkubačného obdobia, intenzity infekcie a sporulácie) prejavujú bližší vzťah k variantom tmavým, voči ktorým v nijakom prípade neboli zistené preukazné rozdiely, kým voči variantom svetlosivému a bielosivozelenkastému vo väčšine prípadoch boli rozdiely v sledovaných ukazovateľoch preukazné (Brillová, 1987). Tieto varianty sme označili ako strednoagresívne.

Tvorba variantov

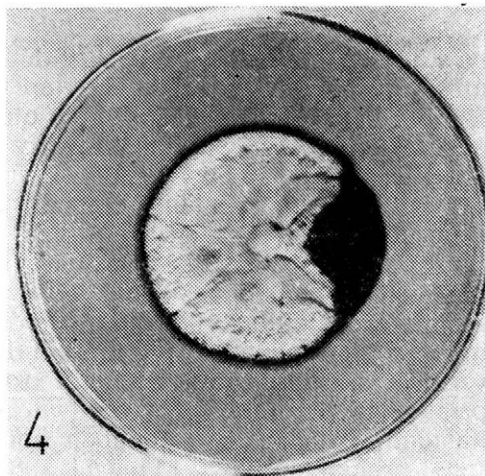
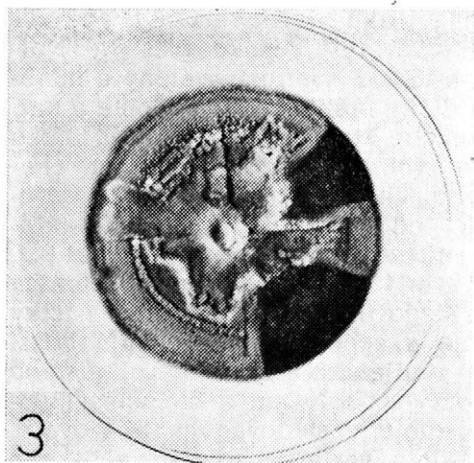
Pri mikrobiologickom spracovaní izolátov rôznych variantov cercospóry repovej, podľa ktorých sme charakterizovali štruktúru lokálnych populácií patogéna, sme zistili sektorovanie kolónií (obr. 1—6). Na pôvodných kolóniách sa vytvorili sektory odlišného sivého až sivozeleného sfarbenia reprezentujúce rôzne agresívne varianty cercospóry. Ich počet a veľkosť boli rozdielne. Odlišné sektory jednej kolónie sa vyznačovali aj odlišnou sporuláciou, charakteristickou pre varianty príslušného sfarbenia. Klonovaním mycéliového inokula zo sektorov na ZGA pôdu



1. Sýtosivozelená kolónia cercospóry repovej s popolavosivým sektorom — Deep grayish-green colony of *Cercospora beticola* Sacc. with ash-grey sector. Orig. D. Brillová, photo J. Blahutiaková



2. Tmavosivozelená kolónia cercospóry repovej so svetlosivozeleným sektorom — Dark grayish-green colony of *Cercospora beticola* Sacc. with light grayish-green sector. Orig. D. Brillová, photo J. Blahutiaková



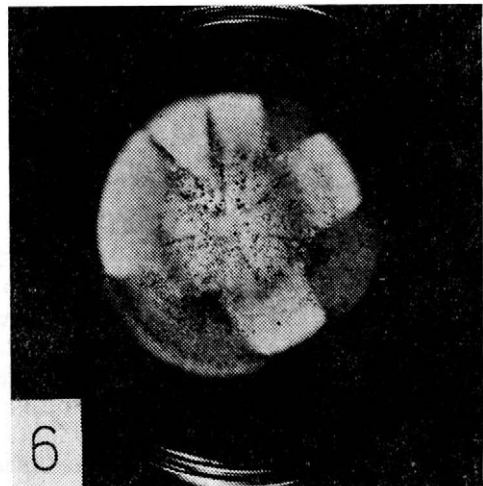
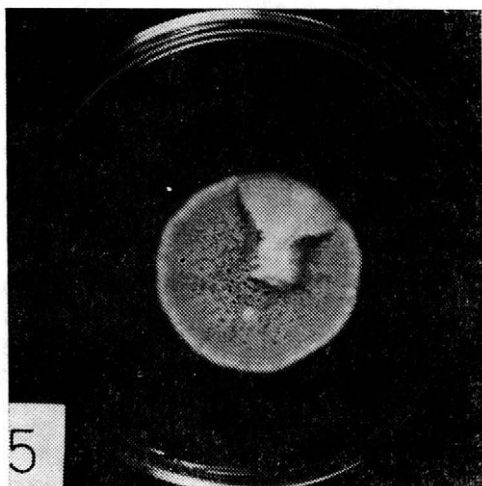
3. Svetlosivozelená kolónia cercospóry repovej s tmavosivými sektormi — Light grayish-green colony of *Cercospora beticola* Sacc. with dark grey sectors. Orig. D. Brillová, photo J. Blahutiaková

4. Bielosivozelená kolónia cercospóry repovej s tmavosivým sektorom — White grayish-green colony of *Cercospora beticola* Sacc. with dark grey sector. Orig. D. Brillová, photo J. Blahutiaková

vyrástli kolónie s trvalými vlastnosťami inokula, čo dokazuje jeden z možných spôsobov tvorby opísaných variantov.

Charakteristika lokálnych populácií

Z výsledkov jednotlivých lokalít vyplynulo, že na zložení populácií sa jednotlivé varianty podieľajú v rôznom zastúpení. Podľa ich



5. Sýtosivozelená kolónia cercospóry repovej s bielosivozelenkastým sektorom — Deep grayish-green colony of *Cercospora beticola* Sacc. with white grayish-green sector. Orig. D. Brillová, photo J. Blahutiaková

6. Sýtosivozelená kolónia cercospóry repovej s bielosivozelenkastými sektormi — Deep grayish-green colony of *Cercospora beticola* Sacc. with white grayish-green sectors. Orig. D. Brillová, photo J. Blahutiaková

I. Lokalita s dominovaním tmavosivých vysokoagresívnych variantov cerkospóry repovej — Localities with dominant dark grey highly aggressive variants of *Cercospora beticola* Sacc.

Lokalita	Okres	Percento izolátov jednotlivých variantov					
		vysokoagresívne		strednoagresívne		slaboagresívne	
		tmavo-sivý	tmavo-sivozelený	popolavo-sivý	sýto-sivozelený	svetlo-sivozelený	bielosivo-zelenkastý
Kožuchov	Trebišov	91	—	—	—	9	—
Novosad	Trebišov	89	—	—	11	—	—
Oborin	Trebišov	96	—	—	4	—	—
Vojany	Trebišov	38	49	—	—	13	—
Pavlovce nad Uhom	Michalovce	15	70	—	15	—	—
V. Kapušany	Michalovce	64	17	—	17	—	2
Kalinovo	Lučenec	71	—	12	17	—	—
Čerenčany	Rim. Sobota	16	58	—	—	26	—
Majcichov	Trnava	—	67	—	21	12	—
Dolný Bar	Dun. Streda	—	81	—	13	6	—
Kálna nad Hronom	Levice	16	52	—	28	—	4
Dolná Seč	Levice	—	72	—	28	—	—
Jur nad Hronom	Levice	—	69	—	23	8	—
Šárovce	Levice	—	78	—	—	22	—
Mikula	Levice	—	59	—	38	—	3
Želiezovce	Levice	—	74	—	11	15	—
Pohronský Ruskov	Levice	8	80	—	10	—	2

frekvencie na sledovaných lokalitách sme zistili tri typy populácií. V rámci väčších územných celkov a tiež jednotlivých lokalít sme zistili výrazné populácie, v ktorých mali dominujúce postavenie vysokoagresívne varianty — tmavosivý a tmavosivozelený. Tento typ populácie sa vyskytoval na 36,1 % sledovaných lokalít. Identifikovali sme ho na východnom Slovensku v južnej časti okresu Trebišov, na lokalitách v povodí riek Ondava, Latorica, Laborec a Uh (tab. I), ďalej na západnom Slovensku v povodí rieky Hron, na lokalitách blízko toku rieky v smere Kálna až Pohronský Ruskov (tab. I). Okrem toho sa vyskytoval aj na ojedinelých lokalitách západného a stredného Slovenska (tab. I).

V populáciách s prevahou vysokoagresívnych variantov je zastúpenie ostatných, menej agresívnych variantov pomerne nízke, alebo takmer zanedbateľné, napr. na niektorých lokalitách východného Slovenska (tab. I). Na lokalitách s populáciami s prevahou vysokoagresívnych variantov bol výskyt cerkospórovej infekcie všeobecne silný. Napr. v povodí riek Ondava, Laborec, Latorica a Uh bolo na jednotlivých lokalitách infikovaných 75—95 % jedincov, pričom intenzita infekcie mohla byť

II. Lokality s dominovaním strednoagresívneho sýtosivozeleného variantu cerko-spóry repovej — Localities with dominant deep grayish-green middle-aggressive variants of *Cercospora beticola* Sacc.

Lokalita	Okres	Percento izolátov jednotlivých variantov					
		vysokoagresívne		strednoagresívne		slaboagresívne	
		tmavo-sivý	tmavo-sivozelený	popolavo-sivý	sýto-sivozelený	svetlo-sivozelený	bielosivo-zelenkastý
Zemplinská Široká	Michalovce	—	18	—	69	13	—
Moravany	Michalovce	—	9	—	79	8	4
Trhovište	Michalovce	—	—	—	81	17	2
Horovce	Michalovce	6	—	—	70	17	7
V. Čalomija	V. Krtíš	—	—	18	62	20	—
Nové Hony	Lučenec	—	—	—	68	23	9
Veľký Ďur	Levice	—	12	—	75	13	—
Tekovské Lužany	Levice	—	2	—	59	32	7
Čifáre	Nitra	—	—	—	91	5	4
Lapaš	Nitra	—	—	—	84	16	—
Slepčany	Nitra	—	6	39	52	—	3
Žitavce	Nitra	—	28	—	65	—	7
Klasov	Nitra	—	—	—	67	20	13
Michal na Ostrove	Dun. Streda	—	8	—	67	22	3
Sládkovičovo	Galanta	—	—	—	71	8	21
Kajal	Galanta	11	—	—	79	10	—
Trnovec nad Váhom	Galanta	—	—	—	75	21	4
Veľká Mača	Galanta	—	—	—	81	10	9
Tvrdošovce	N. Zámky	—	—	—	80	14	6
Šurany	N. Zámky	—	—	—	71	20	9
Komárno	Komárno	—	19	—	68	13	—
Senec	Bratislava vidiek	—	—	—	52	37	11
Nová Dedinka	Bratislava vidiek	—	—	23	49	17	11
Ivanka pri Dunaji	Bratislava vidiek	—	17	—	50	5	28

často hodnotená stupňom od 4 do 4,5 alebo aj 5. V povodí rieky Hron bol výskyt infikovaných jedincov 45—80% a intenzita infekcie mohla byť hodnotená od stupňa 1 do 4,5, najčastejšie stupňom 3,5.

Ďalším typom je populácia s prevahou strednoagresívneho sýtosivozeleného variantu. Tento typ bol najfrekvencovanejší, našli sme ho na 51,0 % sledovaných lokalít. Dominujúci sýtosivozelený variant nemá na väčšine lokalít také vysoké zastúpenie ako mali v populáciách vysoko-

Lokalita	Okres	Percento izolátov jednotlivých variantov					
		vysokoagresívne		strednoagresívne		slaboagresívne	
		tmavo-sivý	tmavo-sivozelený	popolavo-sivý	sýto-sivozelený	svetlo-sivozelený	bielosivozelenkastý
Behynce	Rim. Sobota	—	—	—	35	44	21
Dvory nad Žitavou	Nové Zámky	—	—	—	35	48	17
Kolta	Nové Zámky	—	—	—	37	42	21
Križovany n. Dudváhom	Trnava	—	—	1	44	32	23
Galanta	Galanta	—	—	—	34	38	28
Čapor	Nitra	—	3	—	46	36	15

agresívne tmavosivé varianty, hlavne na východnom Slovensku. V tomto type populácií sa uplatnilo bohatšie zastúpenie ostatných variantov, slaboagresívnych (svetlosivozeleného a bielosivozelenkastého) ako aj variantu popolavosivého. V niektorých prípadoch tu boli v nízkom zastúpení aj varianty vysokoagresívne (tab. II). Na lokalitách výskytu tohto typu populácie bol prejav cerkospórového ochorenia pomerne slabý. Napr. na lokalitách východného Slovenska, severne až severozápadne od povodia riek Latorica, Laborec a Uh, bol výskyt ochorenia iba 25—30 %, s intenzitou infekcie 0,5—4,5, najčastejšie v stupni 2. Na mnohých iných lokalitách (stredného a západného Slovenska) bolo percento ochorenia ešte nižšie (10—25 %). Často išlo iba o viac či menej početný ohniskový výskyt s rôzne veľkým rádiom šírenia sa.

Na 12,7 % lokalít sme zistili populácie, v ktorých sme evidovali prevažne slaboagresívne varianty, avšak nijaký nemal výraznejšiu prevahu (tab. III). Výskyt infekcie pri takejto štruktúre populácií bol slabý ohniskový s malým až nepatrným rádiom šírenia sa.

DISKUSIA

Vysokoagresívne varianty — tmavosivý a tmavosivozelený majú dominujúce postavenie v populáciách východného Slovenska v povodí riek Ondava, Latorica, Laborec a Uh a v Záposlovenskom kraji v povodí rieky Hron. Tieto dva územné celky predstavujú oblasti, v ktorých sa cerkospóra vyskytuje pravidelne a intenzívnejšie ako v iných oblastiach. Aj v rokoch, kedy cerkospóra u nás prestala byť nebezpečnou, t. j. od konca šesťdesiatych rokov, kedy mnohé porasty cukrovej repy neboli cerkosporou vôbec infikované, alebo výskyt choroby bol celkom zanedbateľný, v uvedených oblastiach sa cerkospóra vyskytovala každoročne a ku koncu vegetačného obdobia v relatívne výraznom zastúpení. Dračovská (1960) zaradila tieto oblasti medzi územia, ktoré najviac trpia cerkosporou a charakterizovala ich spoločným menovateľom — zrážky nad 600 mm. Do tohoto zrážkového pásma patria však aj mno-

hé lokality, napr. aj na východnom Slovensku mimo povodia uvedených riek, na ktorých v lokálnych populáciách dominoval sýtosivozelený strednoagresívny variant a výskyt cercospóry bol v podstate nižší. Preto hoci zrážky, resp. vlhkosť je jedným z dominantných faktorov, na ktorý cercospóra reaguje počas ontogenézy veľmi citlivo, treba výskyt a rozšírenie cercospórového ochorenia chápať komplexne, vychádzajúc z genotypu patogéna vrátane jeho veľkej heterogenity.

Populácie cercospóry repovej sa zakladajú a rozvíjajú každý rok. Ich základom sú jedince určitého genotypu, ktoré sa na danej lokalite prechovali, alebo sa sem postali napr. osivom, vzdušnými prúdmi, alebo vektorom — voškou makovou. Tieto vlastne predstavujú počiatočný infekčný zdroj. Vývoj populácií sa potom uskutočňuje postupnými vlnami rozmnožovania tohto nevelkého počtu jedincov. Pretože cercospóra sa rozmnožuje iba nepohlavne, jej populácie reprezentuje množstvo klonov. Heterogenitu jej populácií namiesto rekombinácie zabezpečujú iné pochody, o ktorých predpokladáme, že by sa mohli podieľať na tvorbe rôznych variantov. Sú to heterokaryóza, parasexuálna rekombinácia, cytoplazmatické determinanty a najčastejšie mutácie, ktoré podľa niektorých autorov (Levitin, Fedorova, 1972; Zacharov et al., 1980; Levitin, 1986) sú vlastne jedným zo základných faktorov mikroevolúcie fytopatogénnych húb. Pri cercospóre sa mutácie indukovali chemicke v podmienkach *in vitro* (Brillová, 1982) a podľa toho mali by mať dôležitú úlohu aj pri tvorbe vnútrodrohových jednotiek patogéna *in vivo*. Frekvencia spontánnych mutácií, hlavne hýfy tvoriacich húb, je síce veľmi nízka od 10^{-7} do 10^{-6} na jadro (Esser, Kuennen, 1967), avšak s ohľadom na mimoriadne vysoký počet konídiových buniek v populáciách cercospóry môžu mutácie dosiahnuť významnú úroveň. Ak napr. predpokladáme na jednohektárovom poraste repy cukrovej iba 30 % výskytu infekcie s priemernou intenzitou v druhom stupni, to znamená, že na tejto ploche by sa malo vyskytovať približne $4,9 \times 10^9$ konídií. Nakoľko konídie cercospóry sú viacbunkové a mutácia môže prebiehať v každej bunke, potom na jednohektárovom poraste repy cukrovej sa bude nachádzať približne $3,9 \times 10^{10}$ jedincov — buniek patogéna, v ktorých sa môže realizovať pochod mutácie. Tento stav teoreticky predstavuje $3,9 \times 10^5$ — $3,9 \times 10^4$ mutácií na hektár, čo je dosť vysoký počet ohniskových zmien, ktoré sú za vhodných podmienok už schopné spôsobiť predstavbu genetickej štruktúry lokálnych populácií a vysoký stupeň ich heterogenity.

Z výsledkov ďalej vyplýva, že štruktúra lokálnych populácií cercospóry sa zakladá jednak na vlastnostiach počiatočného infekčného zdroja, ktorý už sám o sebe môže (avšak nemusí) byť heterogénny, pretože môže (ale nemusí) pozostávať z rôznych variantov, a jednak na tom, v akom smere pokračuje jeho ďalší vývoj. Tento spravidla ovplyvňujú mnohé faktory, vrátane genetickej prestavby jedincov, ktorá sa v našom prípade výrazne prejavila sektorovaním pôvodných kolónií. Jedince s novými vlastnosťami, ktoré vznikajú v priebehu vývoja populácie z počiatočného infekčného zdroja, sa potom ako varianty podieľajú na heterogenite populácií. Ich ďalší osud — kvantitatívne zastúpenie v populácii — závisí od podmienok, v ktorých sa nachádzajú a od stupňa ich agresivity. Vysokoagresívne jedince sa totiž môžu vo vhodných podmienkach rýchlo rozmnožiť, potlačiť ostatné varianty a zaujať v populáciách dominujúce postavenie. Ich celkové rozšírenie v priestore, t. j.

v lokálnej populácii, môže byť limitované ešte aj časom, pretože vznik nových kvalít v pokročilom úseku vegetačného obdobia neposkytuje už priestor pre ich plnú realizáciu. Táto skutočnosť môže byť aj jednou z príčin nízkeho zastúpenia vysokoagresívnych variantov v populáciách, v ktorých prevažujú strednoagresívne varianty.

Z celkového vyplýva, že zistená vnútrodrohová rôznorodosť cerkospóry je základom štruktúry jej populácií a cestou individuálnej variability spôsobuje heterogenitu lokálnych prírodných populácií. Okrem toho, podiel variantov s rôznou agresivitou na štruktúre lokálnych populácií sa odzrkadľuje aj na zdravotnom stave cukrovej repy.

Literatúra

- BRILLOVÁ, D.: The effect of N-nitroso-N-ethylurea on mutagenesis of *Cercospora beticola* Sacc. Biol. Plant. (Praha), 24, 1982, s. 415-422.
- BRILLOVÁ, D.: Vnútrodrohová variabilita cerkospóry repovej. Čes. Mykol., 41, 1987, s. 37-45.
- DRACHOVSKÁ, M.: Prognóza řepné cercosporiízy. Listy cukrov., 76, 1960, s. 78-84.
- ESSER, K. — KUENEN, R.: Genetics of fungi. Berlin, Springer-Verlag 1967, 500 s.
- KVITKO, K. V.: Osnovné vlastnosti a roľ mutácií i otčora v mikrobnych populacijach. In: Uspechi sovremennoj genetiki. Moskva, Nauka 1974, s. 101-113.
- LEVITIN, M. M.: Genetičeskije osnovy izmenčivosti fitopatogennych gribov. Leningrad, Agropromizdat 1986, 208 s.
- LEVITIN, M. M. — FEDOROVA, I. V.: Genetika fitopatogennych gribov. Leningrad, Nauka 1972, 215 s.
- MAJR, E.: Populjácii, vidy i evolucija. Moskva, Mir 1974, 460 s.
- PEČURKIN, N. S.: Populjacionnaja mikrobiologija. Novosibirsk, Nauka 1978, 207 s.
- SOLBRIG, O. — SOLBRIG, D.: Populjacionnaja biologija i evolucija. Moskva, Mir 1982, 488 s.
- TIMOFEEV-RESOVSKIJ, N. V. — JABLOKOVÁ, A. V. — GLOTOV, N. I.: Očerku učeniya o populjácii. Moskva, Nauka 1973, 277 s.
- UILJAMSON, M. S.: Analiz biologičeskich populjacij. Moskva, Mir 1975, 271 s.
- ZACHAROV, I. A. — KOVALEVA, S. V. — KOŽINA, T. N. — FEDOROVA, I. V. — JAROVJ, B. F.: Mutacionnyj process u gribov. Leningrad, Nauka 1970, 286 s.
- ZAVADSKIJ, K. M.: Vid i vidoobrazovaniye. Leningrad, Nauka 1968, 404 s.

Došlo dňa 16. 2. 1987

БРИЛЛОВА, Д. (Институт экспериментальной фитопатологии и энтомологии, Иванка при Дунае): Популяции церкоспороза свеклы (*Cercospora beticola* Sacc.) в Словакии. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 29-38.

На структуре локальных популяций церкоспороза свеклы в агроценозах Словакии участвовало шесть вариантов. Были получены как моноспоровые изоляты из 47 локалит и были охарактеризированы как внутривидовые единицы изменчивости с отличительными свойствами цвета *in vitro* и различной агрессивностью *in vivo*. По фреквенции различно агрессивных вариантов были определены три типа локальных популяций: 1. с преимуществом темно-серых высокоагрессивных вариантов, 2. с преимуществом сыто серо-зеленого среднеагрессивного варианта, 3. без выразительного преимущества были представлены главным образом слабоагрессивные варианты. Степень агрессивности вариантов и их количественное представительство влияет на фитопатогенный потенциал популяции. Различно агрессивные варианты создают основу гетерогенной структуры популяции. *In vitro* на первоначальных изолятах возникали также появлением секторов в поколениях. Обсуждаются механизмы создания вариантов.

степень агрессивности; создание вариантов; фитопатогенный потенциал популяции

BRILLOVÁ, D. (Institute of Experimental Phytopathology and Entomology, Ivanka pri Dunaji): *Populations of the Cercospora beticola* Sacc. in Slovakia. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 29-38.

The structure of local populations of the *Cercospora beticola* Sacc. in the agro-cenoses of Slovakia includes six variants. These variants were obtained as monospore isolates from 47 localities and were characterized as intraspecific units of variability with different colour characteristics *in vitro* and different aggressivity *in vivo*. Three types of local populations were determined according to the frequencies of variants of different aggressivity: 1. local populations with a prevalence of the highly aggressive dark gray variants, 2. with a prevalence of deep grayish-green variants of medium aggressivity, 3. with no marked prevalence (mainly the variants of low aggressivity). The degree of aggressivity of the variants and their quantitative proportions influence the phytopathogenic potential of the population. The variants of different aggressivity form a basis for the heterogeneous structure of the populations. They were also produced *in vitro* on the original isolates as sectors of the colonies. The mechanisms of the formation of the variants are discussed.

degree of aggressivity; formation of variants; phytopathogenic potential of the population

BRILLOVÁ, D. (Institut für experimentelle Phytopathologie und Entomologie, Ivanka pri Dunaji): *Populationen der Cercospora beticola* Sacc. in der Slowakei. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 29-38.

An der Struktur der Populationen der *Cercospora beticola* in den Agrozönos der Slowakei sind sechs Varianten beteiligt. Diese wurden als Monosporenisolate aus 47 Lokalitäten gewonnen und wurden als innerartliche Variabilitätseinheiten mit unterschiedlichen Farbeigenschaften *in vitro* sowie unterschiedlicher Aggressivität *in vivo* charakterisiert. Der Frequenz der verschiedenartig aggressiven Varianten nach, wurden drei Typen lokaler Populationen ermittelt: 1. die mit Übergewicht dunkelgrauer hochaggressiver Varianten, 2. die mit Übergewicht sattgrüngrüner mittelmäßig aggressiver Varianten, 3. ohne markantes Übergewicht waren hauptsächlich schwachaggressive Varianten vertreten. Der Aggressivitätsgrad der Varianten und ihre quantitative Vertretung beeinflussen das phytopathogene Potential der Population. Die abweichend aggressiven Varianten bilden die Basis der heterogenen Struktur der Populationen. Auf ursprünglichen Isolat in *in vitro* entstanden sie auch durch Sektorierung von Kolonien. Es werden die Mechanismen der Variantenbildung diskutiert.

Aggressivitätsgrad; Variantenbildung; phytopathogenes Potential der Population

Adresa autorky:

RNDr. Dorota Brillová, CSc., Ústav experimentálnej fytopatológie a entomológie CBEV SAV, 900 28 Ivanka pri Dunaji

OVĚŘENÍ METODY KRÁTKODOBÉ PROGNÓZY PLÍSNĚ BRAMBOROVÉ [*PHYTOPHTHORA INFESTANS* (MONT.) DE BARY]

R. Hrubý, Z. Čáča

HRUBÝ, R. — ČÁČA, Z. (Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Brno; Vysoká škola zemědělská, Brno): *Ověření metody krátkodobé prognózy plísně bramborové* [*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary]. *Ochr. Rostl.*, 24, 1988 (1) : 39-45.

V práci jsou porovnány výsledky zpracování krátkodobé prognózy plísně bramborové — BLITECAST (Krause et al., 1975) se skutečným výskytem plísně bramborové na pokusné ploše bramborů odrůdy 'Radka' ponechané bez fungicidního ošetření. První výskyt plísně bramborové na pokusné ploše byl zjištěn ve čtyřech případech v období stanoveném krátkodobou prognózou a ve dvou případech následoval 3 a 22 dní po tomto období. Prognóza dalšího šíření plísně bramborové pro signalizaci ošetření fungicidy byla v souladu se skutečným výskytem choroby během vegetace.

Phytophthora infestans (Mont.) de Bary; *Solanum tuberosum* L.; krátkodobá prognóza

Pokusy s matematickými modely simulujícími napadení natě bramboru plísní bramborovou podle působení podmínek vnějšího prostředí a hostitelské rostliny dokazují vyšší účinnost fungicidních ošetření aplikovaných v závislosti na průběhu počasí (Spadafora et al., 1984). Vyšší účinnost ošetření se projevuje zejména při značně proměnlivých vnějších podmínkách, to znamená především v oblastech s odlišným průběhem počasí v jednotlivých letech, což je charakteristické i pro povětrnostní podmínky ČSSR. Optimalizace termínů ošetření s ohledem na počasí ale vyžaduje dostatečně přesnou a spolehlivou metodu prognózy a signalizace plísně bramborové, kterou se pro naše přírodní podmínky dosud nepodařilo najít. Vysoké nároky na přesnost a spolehlivost zcela nesplňují ani současně využívaná metoda signalizace prvního ošetření ÚKZÚZ (Kolektiv, 1984), ani metoda předpovědi meteorologických podmínek pro šíření plísně bramborové (Musil, 1978).

Již od roku 1976 je v některých oblastech USA poměrně úspěšně využívána pro usměrnění fungicidní ochrany bramborů metoda krátkodobé předpovědi plísně bramborové — BLITECAST (Krause et al., 1975), vycházející z prognostického systému sledování dešťových srážek (Hyre, 1954) a systému založeném na registraci vlhkosti a teploty vzduchu (Wallin, 1962).

Cílem této práce bylo vyhodnotit výsledky krátkodobé prognózy (BLITECAST) vzhledem ke skutečnému výskytu plísně bramborové v porostu bramborů bez fungicidního ošetření. Práce by měla přispět k ověření uvedené prognostické metody v podmínkách ČSSR.

MATERIÁL A METODY

V letech 1983 až 1986 bylo na zkušební stanici ÚKZÚZ v Hradci nad Svitavou a v letech 1985 a 1986 i na pozemku ÚKZÚZ OKOR v Brně vysazeno na plochu přibližně 200 m² vždy 1080 hlíz brambor (spon 0,75 × 0,25) uznané sadby odrůdy 'Radka'. Na pokusné ploše, ponechané celou vegetací bez fungicidního ošetření, byl ve dvou až třídenních intervalech kontrolován první výskyt plísně bramborové a dále v tří až šestidenních intervalech zjišťováno její další šíření na nati bramborů. Výskyt plísně bramborové byl hodnocen vždy na 100 náhodně vybraných rostlinách podle metodiky, kterou publikoval Schrödter a Ullrich (1965). Napadení natě je zde hodnoceno šestistupňovou stupnicí s možností převedení průměrného stupně napadení na procento napadené natě, přičemž stupeň napadení 0 odpovídá napadení natě do 5 % a maximálnímu stupni napadení odpovídá 80 % napadení natě. Pokus byl ukončen v době 60–80 % napadení natě, nebo při začátku zřetelného odumírání natě v důsledku přirozeného dozrávání. Přímě na pokusné ploše byla průběžně měřena teplota a relativní vlhkost vzduchu, dešťové srážky byly v Hradci n. S. měřeny ve vzdálenosti asi 200 m a v Brně asi 2000 m od pokusné plochy. Pro měření teploty a relativní vlhkosti vzduchu bylo využito termohydrafru TZ-18 umístěného v žaluziové budce do porostu bramborů tak, že čidla přístroje byla 10–15 cm nad povrchem půdy mezi řádky. Denní srážky byly měřeny běžným srážkoměrem za podmínek platných pro srážkoměrné stanice ČHMÚ. Sledování a hodnocení meteorologických faktorů bylo zahájeno vždy po úplném vzejití porostu.

Pro výpočet a sestavení předpovědi plísně bramborové (BLITECAST) byla využita metodika, kterou publikovali Krause et al. (1975). Byl registrován počet tzv. srážkově příznivých dnů (A), což jsou dny, kdy minimální denní teplota vzduchu neklesne pod 7,2 °C a součet srážek během předcházejících deseti dnů je ≥ 30 mm. Dále byl registrován počet po sobě jdoucích hodin, po které byla relativní vlhkost vzduchu ≥ 90 % a pro každou takovou periodu byla vypočtena průměrná teplota vzduchu během periody (t). Délka těchto period a jím odpovídající průměrné teploty vzduchu určují tzv. hodnotu rizikové periody (B) (tab. I).

I. Hodnota rizikové periody — vztah mezi teplotou (t) a počtem hodin s relativní vlhkostí ≥ 90 % — Severity values — relationship between the temperature (t) and the number of hours with relative humidity ≥ 90 %

Průměrná teplota vzduchu — t [°C]	Hodnota rizikové periody — B				
	0	1	2	3	4
	počet hodin s relativní vlhkostí vzduchu ≥ 90 %				
7,2–11,6	15	16–18	19–21	22–24	25 <
11,7–15,0	12	13–15	16–18	19–21	22 <
15,1–26,6	9	10–12	13–15	16–18	19 <

Z počtu srážkově příznivých dnů (A) a hodnot kritických period (B) se stanoví:

1. Předpověď prvního výskytu plísně bramborové a signalizace prvního ošetření v den, kdy počet po sobě jdoucích srážkově příznivých dnů (A) dosáhne hodnoty 10, nebo když součet hodnot kritických period (B) dosáhne hodnoty 18. První výskyt choroby následuje 7–14 dní po vydání předpovědi.

2. Prognóza šíření plísně bramborové a signalizace dalších ošetření závisící na počtu srážkově příznivých dnů (A) a součtu hodnot kritických period (B) hodnocených vždy po uplynutí sedmi dnů počínaje dnem předpovědi prvního výskytu plísně bramborové (tab. II).

Pro statistické hodnocení závislosti mezi hodnotami, které určují prognózu výskytu plísně bramborové — BLITECAST (A, B) a skutečným napadením pokusné plochy, bylo využito jednoduché lineární korelační analýzy. Aby byl splněn předpoklad lineárního růstu napadení v závislosti na čase byl průběh napadení natě upraven podle vztahu:

$$\text{Logit } y = 5 + \frac{1}{2} \ln \frac{y}{100 - y}$$

kde: y — procento natě napadené plísní bramborovou (Schrödter a Ullrich, 1965).

Z takto upravených hodnot byla vypočtena regresní přímka výskytu a plocha pod regresní přímkou (a), která byla dále normalizována jako podíl plochy (a) a počtu dní (n) od vzejití do konce sledování (Fry, 1978).

II. Předpis pro signalizaci dalších ošetření — Schedule of subsequent sprays

Počet srážkově příznivých dnů — A	Hodnota kritické periody — B					
	< 3	3	4	5	6	> 6
	hodnota prognózy					
< 5	-1	-1	0	1	1	2
> 4	-1	0	1	2	2	2

-1 — neošetřovat; 0 — neošetřovat; 1 — ošetření v sedmidenních intervalech; 2 — ošetření v pětidenních intervalech

VÝSLEDKY

Prognóza prvního výskytu plísně bramborové v porovnání se skutečným prvním výskytem choroby na nati bramborů na pokusné ploše je uvedena v tab. III. Na pokusné ploše v Hradci n. S. byl v letech 1983 až 1986 první výskyt plísně bramborové zjištěn 10, 11, 14 a 7 dní po vydání prognózy, to znamená vždy v období stanoveném ověřovanou metodou. Na pokusné ploše v Brně v letech 1985 a 1986 první výskyt následoval 17 a 36 dní po vydání prognózy, to znamená předčasné vydání prognózy o tři a 22 dní. V tab. III je dále uveden maximální počet po sobě jdoucích srážkově příznivých dnů (max. A) a součet hodnot kritických period (ΣB), vždy v období od vzejití porostu do vydání prognózy prvního výskytu choroby.

III. Prognóza prvního výskytu plísně bramborové — A forecast of the first occurrence of potato late blight

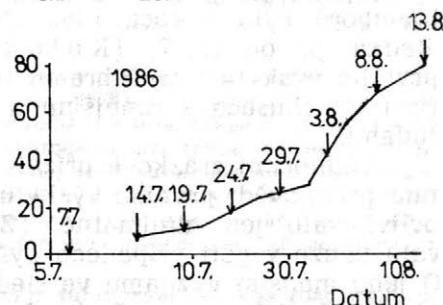
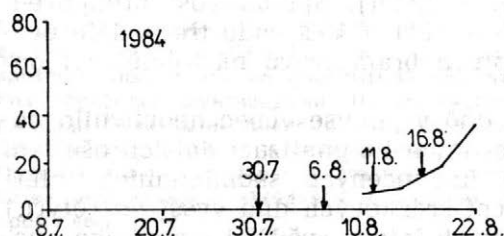
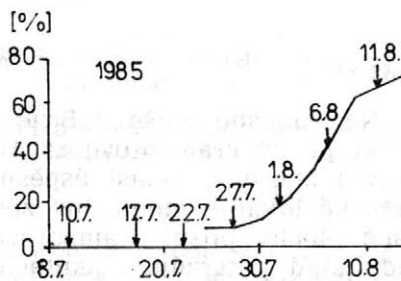
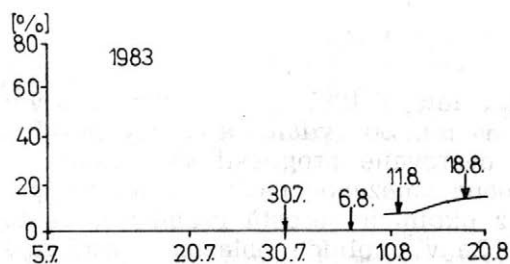
Lokalita	Rok	Max. A	ΣB	Datum vydání prognózy ⁺	První výskyt choroby
Hradec n. S.	1983	1	19	30. 7.	9. 8.
	1984	5	21	30. 7.	10. 8.
	1985	3	18	10. 7.	24. 7.
	1986	4	21	7. 7.	14. 7.
Brno	1985	6	18	2. 7.	19. 7.
	1986	8	19	7. 7.	12. 8.

⁺ datum vydání prognózy = signalizace prvního ošetření

Prognóza šíření plísně bramborové a signalizace dalších ošetření vycházející ze součtu srážkově příznivých dnů (ΣA) a součtu hodnot kritických period (ΣB) v sedmidenních intervalech ode dne vydání předpovědi prvního výskytu plísně bramborové do ukončení pokusu uvádí tab. IV. Napadení natě plísní bramborovou v době od zapojení porostu v řádcích do ukončení pokusu a termíny signalizovaných ošetření na pokusné ploše v Hradci n. S. v letech 1983 až 1986 znázorňuje obr. 1. Z grafu je zřejmé, že menší počet signalizovaných ošetření v letech 1983 a 1984 odpovídá pozdnímu výskytu a pomalému šíření plísně bramboro-

IV. Signalizace dalších ošetření — Schedule of subsequent sprays

Lokalita	Rok	Sedmidenní interval	ΣA	ΣB	Hodnota prognózy	Signalizace ošetření
Hradec n. S.	1983	31. 7.—6. 8.	1	11	2	6. 8.
		7.—13. 8.	—	6	1	11. 8.
		14.—20. 8.	—	2	—1	18. 8.
	1984	31. 7.—6. 8.	—	8	2	6. 8.
		7.—13. 8.	—	14	2	11. 8.
		14.—20. 8.	—	—	—1	16. 8.
	1985	11.—17. 7.	2	11	2	17. 7.
		18.—24. 7.	4	9	2	22. 7.
		25.—31. 7.	1	11	2	27. 7.
		1.—7. 8.	2	13	2	1. 8., 6. 8.
		8.—14. 8.	7	18	2	11. 8.
		15.—21. 7.	—	12	2	19. 7.
	1986	22.—28. 7.	—	8	2	24. 7.
		29. 7.—4. 8.	—	13	2	29. 7., 3. 8.
		5.—11. 8.	1	12	2	8. 8., 13. 8.
	1985	3.—9. 7.	—	4	0	—
		10.—16. 7.	2	10	2	16. 7.
		17.—23. 7.	7	13	2	21. 7.
		24.—30. 7.	1	8	2	26. 7.
		31. 7.—6. 8.	1	9	2	31. 7., 5. 8.
		7.—13. 8.	7	12	2	10. 8., 15. 8.
Brno	1986	8.—14. 7.	—	4	0	—
		15.—21. 7.	—	5	1	21. 7.
		22.—28. 7.	—	8	2	28. 7.
		29.—4. 8.	—	6	1	2. 8.
		5.—11. 8.	7	7	2	9. 8.
		12.—18. 8.	3	14	2	14. 8., 19. 8.



1. Napadení natě bramboru plísní bramborovou (v %) a signalizace ošetření na lokalitě Hradec n. S. (↓ termín signalizovaného ošetření) — Infection of potato leaves with potato late blight and schedule of sprays at Hradec n. S. (↓ means scheduled date of treatments)

vé, naopak větší počet ošetření v pětidených intervalech v letech 1985 a 1986 odpovídá časnému výskytu a velmi rychlému šíření choroby na pokusné ploše. Průběh napadení v letech 1985 a 1986 na pokusné ploše v Brně měl přes pozdější první výskyt choroby obdobný průběh jako v Hradci n. S. a proto není v grafu uváděn.

Při statistickém hodnocení závislosti mezi hodnotami, které určují prognózu plísně bramborové — BLITECAST a skutečným výskytem choroby na pokusné ploše v letech 1983 až 1986 v Hradci n. S. a v letech 1985 a 1986 v Brně byla zjištěna vysoká těsnost závislosti mezi celkovým součtem hodnot kritických period (ΣB) v období od vzejití do ukončení pokusu (n) a normalizovanou plochou pod regresní přímkou výskytu (a/n) ($r = 0,88^+$; $P = 0,05$). Naopak závislost mezi celkovým počtem srážkově příznivých dnů (ΣA) a normalizovanou plochou a/n nebyla prokázána. Hodnoty použité pro statistickou analýzu jsou uvedeny v tab. V.

V. Hodnoty pro statistickou analýzu prognózy a výskytu plísně bramborové — The values for a statistical analysis of forecast and occurrence of potato late blight

Lokalita	Rok	n	$\Sigma A/n$	$\Sigma B/n$	a/n
Hradec n. S.	1983	80	0,038	0,475	3,01
	1984	72	0,153	0,639	7,39
	1985	72	0,333	1,135	24,43
	1986	75	0,200	1,053	36,24
Brno	1985	83	0,374	0,904	25,40
	1986	88	0,216	0,784	7,60

Na pokusné ploše v Brně byl v letech 1985 a 1986 zjištěn první výskyt plísně bramborové až 17 a 36 dní po vydání prognózy prvního výskytu choroby. Menší úspěšnost ověřované prognostické metody na brněnské lokalitě mohla být způsobena omezenou možností infekce pokusné plochy plísní bramborovou z okolních porostů bramborů. Tento předpoklad potvrzuje i skutečnost, že v okolních oblastech pěstování bramborů byla v roce 1986 zjišťována plíseň bramborová na odrůdě 'Radka' již od 15. 7. [Kolektiv, v tisku]. Spolehlivost předpovědi prvního výskytu plísně bramborové — BLITECAST bude třeba dále ověřit i v pokusech s ranějšími a k plísní bramborové náchylnějšími odrůdami.

Hodnocení srážkově příznivých dnů v pokusech vůbec neovlivnilo datum předpovědi prvního výskytu choroby a i signalizaci dalších ošetření ovlivňovalo jen minimálně. [Z 28 hodnocených sedmidenních intervalů pouze v pěti případech byl počet srážkových dnů vyšší než čtyři.] O jeho menším významu ve sledovaných letech svědčí i statistická analýza výsledků pokusu. Bude zřejmě vhodné ověřit srážkově příznivý den definovaný menším množstvím srážek než uvádějí Krause et al. (1975).

V řadě prací (Fry, 1978; Fry et al., 1983; Fohner et al., 1984) byly publikovány výsledky pokusů s metodou BLITECAST v souvislosti s aplikací různých fungicidů na odrůdy bramborů s rozdílnou náchylností k plísní bramborové. Byly zkoušeny účinné látky chlorothalonil, mancozeb, captafol a metalaxyl a výsledků bylo využito k modifikacím metody v závislosti na fungicidu a odrůdě (Fry et al., 1983). Pro další spolehlivé ověření metody předpovědi plísně bramborové — BLITECAST v našich podmínkách bude nezbytné provedení obdobných pokusů, které by daly podklady především pro interpretaci hodnot prognózy pro signalizaci dalších ošetření vzhledem k aplikaci různých fungicidů a vzhledem ke stupni odolnosti jednotlivých odrůd bramborů.

Literatura

- FOHNER, G. R. — FRY, W. E. — WHITE, G. B.: Computer simulation raises question about timing protectant fungicide application frequency according to a potato late blight forecast. *Phytopathology*, 74, 1984, s. 1145-1147.
- FRY, W. E.: Quantification of general resistance of potato cultivars and fungicide effects for integrated control of potato late blight. *Phytopathology*, 68, 1978, s. 1650-1655.
- FRY, W. E. — APPLE, A. E. — BRUHN, J. A.: Evaluation of potato late blight forecasts modified to incorporate host resistance and fungicide weathering. *Phytopathology*, 73, 1983, s. 1054-1059.
- HYRE, R. A.: Progress in forecasting late blight of potato and tomato. *Pl. Dis. Repr.*, 38, 1954, s. 245-263.
- KOLEKTIV: Metodiky prognózy signalizace a evidence. ÚKZÚZ-OKOR, Brno, 1984, s. 93-102.
- KOLEKTIV: Přehled výskytu některých škodlivých činitelů rostlin na území ČSSR v roce 1986. (v tisku).
- KRAUSE, R. A. — MASSIE, L. B. — HYRE, R. A.: Blitecast: a computerized forecast of potato late blight. *Pl. Dis. Repr.*, 59, 1975, s. 95-98.
- MUSIL, J.: Studium možnosti prognózy plísně bramborové na základě meteorologických předpovědí. [Závěrečná zpráva.] *Havl. Brod, Výzk. šlecht. Úst. brambor.* 1978.
- SCHRÖDTER, H. — ULLRICH, J.: Untersuchungen zur Biometeorologie auf mathematisch-statistischer Grundlage. *Phytopath. Z.*, 54, 1965, s. 87-103.

SPADAFORA, V. J. — BRUHN, J. A. — FRY, W. E.: Influence of selected protectant fungicides and host resistance on simple and complex potato late blight forecasts. *Phytopathology*, 74, 1984, s. 519-523.

WALLIN, J. R.: Summary of recent progress in predicting late blight epidemics in United States and Canada. *Amer. Potato J.*, 39, 1962, s. 306-312.

Došlo dne 20. 5. 1987

ГРУБЫ, Р. — ЧАЧА, З. (Центральный сельскохозяйственный контрольный и испытательный институт, Брно): Проверка метода кратковременного прогноза картофельного гриба [*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary]. *Ochr. Rostl.*, 24, 1988 (1): 39-45.

В работе сравниваются результаты разработки кратковременного прогноза картофельного гриба — BLITECAST (Краузе и кол., 1975) с натуральным наличием картофельного гриба на подопытной площади картофеля сорта «Радка» оставленного без обработки фунгицидами. Первое наличие картофельного гриба на подопытной площади было установлено в четырех случаях в периоде установленном кратковременным прогнозом и в двух случаях следовало 3 и 22 дня после этого периода. Прогноз дальнейшего распространения картофельного гриба для сигнализации обработки фунгицидами находился в согласии с настоящим появлением заболевания во время вегетации.

Phytophthora infestans (Mont.) de Bary; *Solanum tuberosum* L.; кратковременный прогноз

HRUBÝ, R. — ČAČA, Z. (Central Control and Testing Institute for Agriculture, Brno; University of Agriculture, Brno): *Contribution to the Forecast Attestation of Potato Late Blight*. *Ochr. Rostl.*, 24, 1988 (1): 39-45.

Results of a short-timed forecast of potato late blight — BLITECAST (Krause et al. 1975) are compared with the occurrence of potato late blight in an experimental field where potato var. Radka was cultivated without any fungicide treatment. The first appearance of potato late blight was found in the experimental field in four cases in relation to the terms determined by forecast. Other two cases occurred 3 to 22 days after the forecast term. The prognosis of further spread of late blight for the signalisation of fungicide treatment was in harmony with the real disease occurrence during the vegetation period.

Phytophthora infestans (Mont.) de Bary; *Solanum tuberosum* L.; short-timed forecast

HRUBÝ, R. — ČAČA, Z. (Zentrales Kontroll- und Prüfungsinstitut der Landwirtschaft, Brno; Hochschule für Landwirtschaft, Brno): *Beitrag zu der Methode einer kurzfristigen Prognose für Krautfäule der Kartoffel* [*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary]. *Ochr. Rostl.*, 24, 1988 (1): 39-45.

In der vorliegenden Arbeit werden die Ergebnisse der Ausarbeitung einer kurzfristigen Prognose von Krautfäule der Kartoffel — BLITECAST (Krause et al., 1975) mit dem wirklichen Auftreten der Krautfäule auf einer Versuchsfläche der Sorte 'Radka' ohne Fungizidbehandlung verglichen. Erstes Vorkommen dieser Krankheit auf der Versuchsfläche wurde in vier Fällen in einem Zeitraum ermittelt, der durch eine kurzfristige Prognose bestimmt wurde, in zwei Fällen folgte 3 und 22 Tage nach diesem Zeitabschnitt. Die Prognose der weiteren Ausbreitung der Krautfäule zwecks der Signalisation der Fungizidbehandlung entsprach dem wirklichen Auftreten dieser Krankheit während der Vegetation.

Phytophthora infestans (Mont.) de Bary; *Solanum tuberosum* L.; kurzfristige Prognose

Adresy autorů:

Ing. Rostislav Hrubý, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Zemědělská 1a, 658 37 Brno

Prof. ing. Zdeněk Čáča, DrSc., Vysoká škola zemědělská, Zemědělská 1, 613 00 Brno

OBHÁJENÉ KANDIDÁTSKÉ DISERTACE

CHOD, J.: *Laboratorní metody diagnózy viróz u kulturních rostlin a možnosti jejich využití ve šlechtění na odolnost*. [Doktorská disertace.] Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha-Ruzyně, 1985, 263 s., 3 svazky příloh. (Obhájeno dne 14. 10. 1987)

Doktorská disertační práce obsahuje výsledky z diagnózy virových chorob kulturních rostlin a jejich etiologie za využití metod komplexní detekce patogenů.

V biologické části jsou uvedeny informace o způsobech přenosu viru mozaiky mrkve, o jeho vztahu k vektoru, nových indikátorových rostlinách pro stanovení X a Y viru bramboru a jeho kmenech, o metodách konzervace antigenů virů. V této části je uvedena propracovaná metodika klíčového testu zaměřená na vytřídění virózních rostlin bramborů ze sadby, výsledky spolehlivosti sérologické detekce YVB v porovnání s detekcí YVB na indikátoru TE1. Zde jsou rovněž uvedeny poznatky ze způsobu ozdravení vybraných odrůd fazolu od viru obecné mozaiky fazolu.

V elektronmikroskopické části jsou uvedeny výsledky ze studia distribuce viru žloutenky řepy a mozaiky řepy v listové růžici a kořenech řepy cukrové, rozložení viru žluté proužkovitosti cibule v podzemních a nadzemních částech cibule a zhotovení elektronogramu viru nekrózy tabáku z naražených pupenů chmele. V této části autor informuje o úspěšné parciální purifikaci viru žluté mozaiky tuřinu a kadeřavosti pelargonie, která umožnila zhotovení vhodných elektronogramů obou virů. Nemalý význam v této části zaujímá i racionalizace přípravy preparátů pro elektronmikroskopické vyšetření, která značně urychluje a zjednodušuje zalévání preparátů do média při přípravě ultratenkých řezů.

V části sérologických metod jsou uvedeny poznatky z přípravy antiséra proti viru žloutenky řepy ze štávy z kořenů řepy cukrové. Zároveň je porovnána spolehlivost sérologické detekce tohoto viru v listech a kořenech řepy cukrové. Neméně zajímavé jsou poznatky ze sledování variability viru žloutenky řepy v listech řepy cukrové v podzimním a zimním období a ze studia jeho dynamiky u rostlin semenné generace cukrovky. Dále jsou uvedeny výsledky z urifikačních postupů, které vedly k přípravě antiséra k viru mozaiky mrkve, viru mozaiky vodního melounu, viru žluté proužkovitosti cibule, viru mozaiky narcisu, kadeřavosti listů pelargonie, stratokosti listů karafiátu a viru pestrokvětosti tulipánu. Na závěr je připojena metodika pro detekci viru obecné mozaiky fazolu z klíčků semen fazolu.

V části věnované studiu biochemických změn v hostitelích indukovaných virovou infekcí jsou uvedeny výsledky z biochemických testů, ověřených na šlechtitelském materiálu řepy cukrové a mrkve za účelem eliminace virózních rostlin z dalšího selekčního cyklu.

V části histologických metod jsou v práci uvedeny metody intracytoplazmatických krystalických inkluzí, nalezených v listech salátu v souvislosti s jeho infekcí virem žilkovitosti salátu.

V části: „Využití diagnostických laboratorních metod k objasnění etiologie viróz nově na území ČSSR prokázaných“ jsou podány experimentální důkazy o nálezích nových virů na řepě cukrové, salátu, mrkvi, tykvi, pelargonii, narcisu a karafiátu. U nově prokázaných virů jsou uvedeny indikátorové rostliny, okruh přenašečů, vyšetřené vlastnosti virů, včetně jejich morfologie a velikosti a purifikační postupy využitě autorem k přípravě antisér. U rostlin chmele je uveden nález částic podobných MLO ve spojitosti se zborcením listů chmele. U nově zjištěných virů byla uvedena jejich škodlivost a rozšíření na území ČSSR.

Závěrečná kapitola obsahuje výsledky ze studia kritérií pro selekci šlechtitelského materiálu odolného k virům. Jako vhodná kritéria odolnosti autor zjistil u řepy cukrové výšku titru viru žloutenky řepy jako kritérium pro rozlišení náchylného a tolerantního materiálu řepy cukrové, index tolerance, výběr podle poměru kyseliny glutamové ke glutaminu. Dále jsou zde uvedeny nové poznatky ze studia dědičnosti rezistence k infekci viru žloutenky řepy a ze studia inhibičních látek zajišťovaných laboratorní metodou. Inhibiční schopnost vůči viru žloutenky byla zjišťována u odrůd řepy cukrové, vůči XVB a YVB u odrůd a kříženců bramborů, tabáku a tulipánů. U bramborů jsou prezentovány výsledky z vyšetření inhibičních schopností vůči XVB ze štávy hlíz a klíčků. U vybraných odrůd a nově šlechtěných řepy cukrové, tabáku, fazolu, salátu, špenátu, melounu a papriky jsou uvedeny výsledky ze zjišťování citlivosti k hospodářsky významným virům. Doktorská disertační práce, která obsahuje celou škálu originálních poznatků teoretického i praktického rázu, přináší komplexní pohled na etiologii nově zjištěných viróz v ČSSR.

NOVÝ SYSTÉM TESTOVÁNÍ REZISTENCE BRAMBORŮ PROTI RAKOVINĚ BRAMBORŮ (*SYNCHYTRIUM ENDOBIOTICUM*) A HÁDÁTKU BRAMBOROVÉMU (*GLOBODERA ROSTOCHIENSIS*)

J. Potoček, J. Brož

POTOČEK, J. — BROŽ, J. (OSEVA — Výzkumný a šlechtitelský ústav bramborářský, Havlíčkův Brod): *Nový systém testování rezistence bramborů proti rakovině bramborů (*Synchytrium endobioticum*) a hádátku bramborovému (*Globodera rostochiensis*)*. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 47-56.

Na odloučeném pracovišti Výzkumného a šlechtitelského ústavu bramborářského ve Šluknově byl zaveden nový systém testování rezistence kříženců brambor proti rakovině bramborů a hádátku bramborovému. Systém je založený na technickém zdokonalení dosud používaných metod inokulace a na úspěšném ověření možnosti společného testování rezistence proti oběma karanténním škodlivým činitelům v laboratoři s použitím speciálních inokulačních trubek. Nový systém snižuje spotřebu práce, hlíz bramborů, infekčního materiálu pro jejich inokulaci a vede ke zkvalitnění zkoušek rezistence.

Synchytrium endobioticum (Schilb.) Perc.; *Globodera rostochiensis* (Woll.); brambory; testování rezistence

V komplexu opatření proti šíření rakoviny bramborů a hádátka bramborového a ke snižování zamořenosti půdy těmito karanténními objekty má velký význam šlechtění a využívání rezistentních odrůd bramborů. V ČSSR je povoleno pěstovat jen odrůdy rezistentní proti původnímu patotypu (D₁) rakoviny. V posledních letech se věnuje zvýšená pozornost též šlechtění odrůd rezistentních proti hádátce. Proto je nutné ve zkouškách rezistence testovat novošlechtění bramborů nejen na rakovinu, ale i na hádátku.

Rezistence bramborů proti rakovině se testuje v laboratorních a polních zkouškách. Laboratorní zkoušky jsou založeny na inokulaci oček hlíz zoosporami *Synchytrium endobioticum* buď modifikovanou metodou Glynne-Lemmerzahla (Glynne, 1925; Lemmerzah, 1930; Zakopal, Spitzová, 1955; Ullrich, 1959 aj.), při níž se zoospory uvolňují z letních zoosporangii, vyvíjejících se v mladých rakovinných nádorech, nebo modifikovanou metodou Spieckermanna (Spieckermann, Kotthoff, 1924; Thiede, Wierling, 1960 aj.), při níž jsou zdrojem zoospor trvalá zoosporangia patogena, obsažená v inokulačním kompostu. Rezistence se hodnotí podle typu reakce odrůdy na infekci (růst nádorů, vývoj patogena v pletivech bez jejich bujení nebo tvorba obranných nekrotických částí či úplné potlačení vývoje patogena). S cílem sjednotit metody a interpretaci výsledků testování rezistence byly v rámci Evropské organizace ochrany rostlin (EPPO) zhodnoceny způsoby testování v evropských zemích (EPPO, 1977) a vypracováno příslušné doporučení výboru této organizace (EPPO, 1982).

Rezistence bramborů proti hádátce se testuje ve skleníkových zkouškách výsadbou hlíz do hrnků se zamořenou zeminou. Metodu, či její modifikace popsali Dunnett (1959), Huijsmann (1959), Sedivý (1962), Hansen (1985) a další. Rezistence se hodnotí podle počtu nově vyvinutých cyst na povrchu kořenového balu rostlin nebo podle počtu embryonů a larev v celém obsahu hrnku před zkouškou a po jejím ukončení (Kort et al., 1977).

V ČSSR platí pro státní zkoušky rezistence odrůd proti hádátku a rakovině, prováděné Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským, závazné metodiky z roku 1983 (Potoček et al., 1983). Rezistence kříženců ze šlechtitelských stanic proti rakovině patotypu D1 a hádátku patotypu Ro1 se testuje na pracovišti Výzkumného a šlechtitelského ústavu bramborářského Havlíčkův Brod ve Sluknově. Ve zkouškách s rakovinou se dosud používal laboratorní kroužkový test (založený na metodě Glynne-Lemmerzahla) a polní test, ve zkouškách s hádátkem skleníkový hrnkový test. Celkový rozsah zkoušek v letech 1980–1984 činil 10–15 tisíc tříhlízových vzorků ročně; v roce 1985 se testovalo více než 20 tisíc a v nejbližších letech se předpokládá vzestup na 25–30 tisíc vzorků. Pro zvládnutí tohoto úkolu byl od roku 1987 zaveden nový systém testování kříženců ze šlechtitelských stanic, založený na technickém zdokonalení metod inokulace a úspěšném ověření možnosti společného testování kříženců na rakovinu a hádátku s použitím nového typu kónických inokulačních trubek.

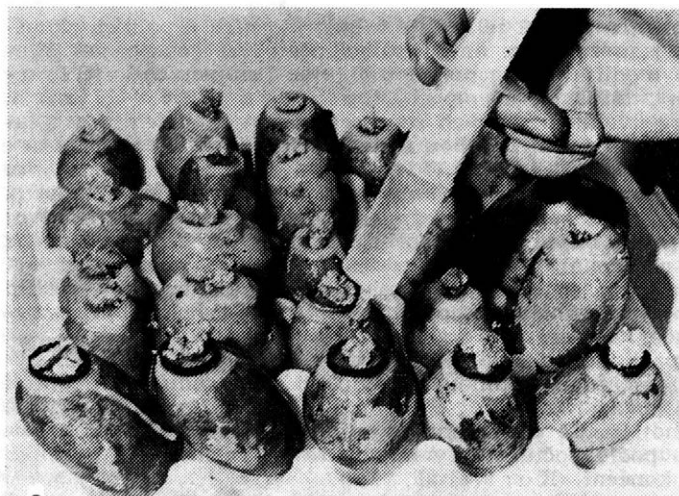
ZKOUŠKY REZISTENCE PROTI RAKOVINĚ

Laboratorní kroužkový test (K-test) — obr. 1

Hlízy se inokulují mladými rakovinnými nádory, obsahujícími letní zoosporangia houby *S. endobioticum*. Nádory se získávají uchováváním napadených hlíz z polních zkoušek ve vlhkém písku při teplotě 10 až 18 °C, předpěstováním na náchylné odrůdě v inokulačním kompostu a odběrem z náchylných vzorků během laboratorních zkoušek.

K inokulaci se používají hlízy s probuzenými očky a zdravými klíčky, z nichž alespoň některé musejí být nejvýše 2 mm dlouhé. Prostor kolem oka nebo několika očí na hlíze se vodotěsně ohraničí několik milimetrů vysokým gumovým kroužkem, připevněným k hlíze rozehřátým parafinem. Do ohraničeného prostoru se vloží jeden až dva kusy čerstvých nádorů velikosti 0,5–2 cm³, a to poraněnou ploškou nahoru. K nádorům se nakape odstátá studená voda tak, aby co největší jejich část, s výjimkou poraněné plošky, byla ponořena.

Doba inokulace je 24 až 48 hodin. Po této době se nádory odstraní a prostor v kroužku vypláchne vodou. Použitými nádory, pokud zůstávají čerstvé, se inokulují další hlízy. Celkem je možno nádory použít jednou až třikrát po 24 hodinách nebo jednou až dvakrát po 48 hodinách. Během inokulace a následující inkubace jsou hlízy uloženy v uzavřeném



1. Laboratorní kroužkový test rezistence proti rakovině brambor — Laboratory ring test for resistance to potato wart

prostoru (v chlebovkách s víkem, přepravkách či skříních překrytých fólií) na umělohmotných proložkách pro vajíčka s odříznutými dny jamek (aby se v nich nehromadila voda). Hlízy se denně nebo každý druhý den jemně mluží vodou. Teplota vody použité k inokulaci a teplota místnosti při inokulaci je 8–15 °C, teplota místnosti při inkubaci je 18–20 °C.

Bonitace se provádí za tři až čtyři týdny po inokulaci. Prohlíží se povrch všech inokulovaných klíčků lupou při zvětšení 1,5 až 6krát. Hodnotí se každá hlíza zvlášť podle klíčku, jehož napadení je z hlediska rezistence nejméně příznivé. Používá se toto bonitační schéma:

Záznam hodnocení

Příznaky

+	rostlina náchylná: typický nádor nebo klíček hypertrofovaný a hustě posetý sóry (letními či trvalými zoosporangii), bez obranných nekrotů;
—	rostlina odolná nebo neinfikovaná: klíček a) normálního vzrůstu nebo deformovaný či s náznakem nádorotvorné reakce, ale vždy s typickými obrannými nekrotizacemi, bez neznekrotizovaných sórů; b) bez příznaků infekce;
?	rostlina podezřelá z náchylnosti: klíček s výskytem ojedinělých neznekrotizovaných sórů nebo s výskytem neznekrotizovaných sórů i typických obranných nekrotů nebo s náznakem nádorotvorné reakce bez typických nekrotů apod.

Laboratorní kroužkový test (K-test) se stanovením stupně napadení

Provádí se stejným způsobem jako K-test, používá se však podrobnější bonitační schéma:

Záznam hodnocení (stupeň napadení)

Příznaky

0	bez příznaků infekce;
1	typické obranné nekrotizace, bez sórů, bez náznaků nádorotvorné reakce, klíček normálního vzrůstu nebo deformovaný v důsledku nekrotů;
2	obránné nekrotizace a sóry: jednotlivá letní zoosporangia nebo jejich skupiny (i větší infekční plochy) znekrotizované či obklopené znekrotizovanými buňkami; bez náznaku nebo s náznakem nádorotvorné reakce s obrannými nekrotizacemi; normální vzrůst či mírné zbytnění klíčku nebo jeho deformace v důsledku nekrotů; bez výskytu trvalých zoosporangii;
3	obraz napadení podle stupně 1 nebo 2, avšak s výskytem ojedinělých trvalých zoosporangii (maximálně pět na klíčku), obklopených znekrotizovanými buňkami;
4	obraz napadení podle stupně 1 nebo 2, ale s výskytem více než pěti trvalých zoosporangii na klíčku, rozmístěných jednotlivě nebo ve skupinách, ale vždy obklopených znekrotizovanými buňkami;

5 sóry, obranných nekrotů málo nebo žádné: jednotlivá letní nebo trvalá zoosporangia nebo jejich skupiny (i větší infekční plochy), neizolované znekrotizovanými buňkami; bez slabé nádorotvorné reakce nebo s ní; klíček může být celý nebo zčásti hypertrofovaný;

6 sóry, obranných nekrotů málo nebo žádné: klíček zčásti nebo celý hustě posetý letními či trvalými zoosporangii, neizolovanými znekrotizovanými buňkami; klíček zčásti nebo celý hypertrofovaný; slabá nádorotvorná reakce nebo růst typického nádoru.

Bonituje se za 20–25 dnů po inokulaci na základě prohlídky pomocí lupy. Při zjištění stupňů 0, 1 a 6 je hodnocení konečné. Při zjištění jiných příznaků se stupeň napadení odhadne (např. 2 nebo 5) a za dalších 10 dnů se provede druhá bonitace na základě mikroskopického vyšetření povrchových pletiv klíčků, sloupnutých nebo odříznutých tenkým řezem z míst infekce (místa výskytu pozdních nekrotů, sórů, s náznakem nádorotvorné reakce apod.). Mikroskopická stanovení se dělají při zvětšení 60–120krát.

Laboratorní trubkový test (T-test)

Hlízy se inokulují inokulačním kompostem s trvalými zoosporangii houby *S. endobioticum*. Kompost se připraví takto: Vyzrálé rakovinné nádory se rozdrobí a smísí s dalšími komponenty v objemovém poměru dva díly listovky nebo rašeliny, dva díly nádorů a jeden díl písku. Směs se navlhčí a udržuje, při občasném promíchání, ve vlhkém stavu při teplotě 18–22 °C. Po třech až čtyřech týdnech se do ní přidají jeden až dva díly zamořené zeminy a dobře promíchaná směs se nechá vyschnout. Podíl zamořené zeminy v kompostu může být i vyšší, a to na úkor písku a rašeliny či listovky, je-li zemina lehká a nesléhavá, nebo na úkor nádorů, je-li silně zamořená. Inokulační kompost z minulé sezóny se přidává do nově připravené směsi nebo se, po obohacení rozpadlými nádory, použije samostatně. V případě potřeby se kompost přihnojí slabší dávkou minerálních hnojiv nebo dobře vyzrálého hnoje.

Tři týdny před inokulací se kompost aktivuje přidáním vody. Těsně před inokulací se jeho vlhkost častým mícháním opět sníží a kompost se zpracuje do mírně vlhkého sypkého stavu.

Inokulují se hlízy s probuzenými očky, zdravými a nepřerostlými klíčky. Na hlízy se připevní speciální inokulační trubky, které se naplní inokulačním kompostem a umístí se do inokulačního regálu. (Zařízení je předmětem patentového řízení.) Zálivka se opakuje každý druhý až čtvrtý den podle rychlosti vysychání kompostu.

Po 10 dnech až šesti týdnech se palcem vytlačí inokulační kompost i s rostlinou z trubky a opatrně se odstraní z výhonků. Hlízy s inokulovanými výhonky se po omytí vodou uloží a ošetřují stejným způsobem jako v K-testu. Kompost je možné použít při době inokulace 10 dnů až tři týdny třikrát až čtyřikrát za sebou, při inokulaci čtyři až pět týdnů dvakrát a při delší době jen jednou. Teplota místnosti je při inokulaci i inkubaci 18–20 °C.

Při době inokulace čtyři týdny a delší se bonituje při ukončení a za tři až čtyři týdny po ukončení inokulace, a to stejným způsobem jako

v polních zkouškách. Při použití silně zamořeného kompostu a hlíz s klíčky nejvýše 2 mm dlouhými je možné zkrátit dobu inokulace na 10 dnů až tři týdny a bonitovat za dva až tři týdny po ukončení inokulace stejným způsobem jako v K-testu. Takto lze nahradit K-test např. při nedostatku čerstvých nádorů.

Polní zkoušky

Kříženci se vysazují v jednom či více opakováních po třech hlízách na silně zamořené pozemky. Ke každému opakování se přidává jedna hlíza náchylné kontrolní odrůdy s výrazně odlišnou barvou slupky. Pokus se běžným způsobem ošetřuje a sklízí se ručně (motykou) v období 20. 8. — 20. 9. Ruční sklizeň lze usnadnit podoráním řádků vhodným náradím. Z každého trsu se prohlíží nať, stolony a všechny hlízy. Hodnotí se každá rostlina zvlášť podle následujícího schématu:

O ... bez makroskopického napadení

R₁ ... nádory velikosti do 0,5 cm

R₂ ... nádory velikosti 0,5—2 cm

R₃ ... nádory velikosti více než 2 cm

V úvahu se bere největší nádor bez ohledu na napadený orgán, počet a velikost ostatních nádorů a počet napadených hlíz. Zjistí-li se jen ojedíněle napadené hlízy, posuzuje se, podle jejich vzhledu a barvy dužiny, zda nejde o náhodnou příměs.

ZKOUŠKY REZISTENCE PROTI HÁDÁTKU

Laboratorní trubkový test (T-test)

Kořeny rostlin bramboru jsou inokulovány larvami *Globodera rostochiensis*, které se lihnou z cyst v zamořeném inokulačním kompostu. Inokulační kompost se připravuje smícháním zamořené zeminy, listovky či rašeliny a písku, popřípadě též použitého kompostu z minulé sezóny (např. 50 % zamořené zeminy, 20 % listovky, 20 % použitého kompostu, 10 % písku). Poměr složek se volí tak, aby v kompostu rostliny bramboru dobře rostly a vytvářely hustý kořenový bal a aby 100 g kompostu obsahovalo alespoň 50 cyst hádátka s živým obsahem. Nedostatečně zamořený kompost se obohatí cystami, vyplavenými ze zamořené zeminy nebo se jeho zamoření zvýší pěstováním náchylných rostlin do dozrání nových cyst. V případě potřeby se inokulační kompost přihnojí slabší dávkou minerálních hnojiv či dobře vyzrálého hnoje.

Infikují se hlízy s probuzenými očky, nejlépe již s dobře vyvinutými, nepřerostlými a zdravými klíčky. Inokulace se provádí jako v T-testu s rakovinou s těmito odlišnostmi: Doba inokulace činí 8 až 10 týdnů, teplota místnosti a zálivkové vody je 20—25 °C a zalévá se, zejména ke konci doby inokulace, slaběji než v T-testu s rakovinou.

Po 8—10 týdnech se sloupec inokulačního kompostu s rostlinou vytlačí z trubky a na povrchu kořenového balu se pomocí lupy (zvětšení 1,5—6krát) hledají a počítají nové cysty hádátka. Je-li cyst více než 30, stanoví se jejich počet odhadem.

Skleníkový hrnkový test (H-test)

Provádí se jako T-test s těmito odlišnostmi: Místo inokulačních trubek se používají hrnky 8 × 8 cm. Do hrnku se zasadí hlíza tak, aby byla překryta cca 2cm vrstvou inokulačního kompostu. Hrnky se přiměřeně zalévají a sklizeň se provádí za 8—12 týdnů (v době maximálního výskytu žlutě zbarvených cyst). Před sklizní se odřeže nať. Při bonitaci se obsah hrnku opatrně vyklepne a na kořenovém balu se zjišťují cysty háďátka.

Skleníkový hrnkový test (H-test) se zjištěním asanačního efektu

V tomto testu se vedle rezistence zjišťuje i schopnost kříženců stimulat líhnutí larev háďátka z cyst a očišťovat tak půdu od infekce. Zkouška se provádí jako H-test s tím, že místo inokulačního kompostu se používá nezamořená kompostová zemina, do níž se nad zasazenou hlízu vloží cysty háďátka v takovém počtu, aby na jednu hlízu připadlo asi 5000 živých embryonů a larev (cca 25—30 cyst).

Počet živých embryonů a larev v cystách se zjišťuje z 30 náhodně vybraných cyst, vyplavených ze zamořené zeminy. Cysty se rozdrtí v ručním homogenizátoru s malým množstvím vody. Pomocí pipety se opláchne dřík homogenizátoru a současně se doplní obsah vody na 5 až 6 ml. Po promíchání suspenze v homogenizátoru pomocí pipety („probublání“) se odebere kapka na podložní sklíčko, přikryje krycím sklíčkem a živé larvy se pod mikroskopem (pod celou plochou krycího sklíčka) spočítají. Životnost larev se zjišťuje podle vzhledu tělního obsahu nebo barvením malachytovou zelení. Odběr kapky suspenze a počítání larev se opakuje pětkrát. Z počtu larev v pěti kapkách a objemu jedné kapky pro použitou pipetu se vypočítá celkový počet larev a embryonů z rozdrobených 30 cyst a průměrný počet na jednu cystu.

Po 12 týdnech růstu v hrnku se nať rostlin bramboru odřízne a obsah hrnku se nechá přirozenou cestou úplně uschnout. Z obsahu hrnku se pak flotační metodou vyplaví a spočítají všechny cysty. Z náhodně vybraných 30 cyst nebo (při menším počtu) ze všech vyplavených cyst se zjistí počet živých embryonů a larev výše popsáním způsobem pomocí homogenizátoru a mikroskopu. Poměr konečné populační hustoty (P_f) k počáteční populační hustotě (P_i), vyjádřený průměrným počtem živých embryonů a larev háďátka na jednu rostlinu, je mírou asanačního efektu křížence. Čím menší je tento podíl, tím vyšší je asanační efekt.

SPOLEČNÉ ZKOUŠKY REZISTENCE PROTI RAKOVINĚ A HÁDÁTKU

Zkoušky se provádějí jako T-test s dobou inokulace 10—12 týdnů. Teplota místnosti a zálivkové vody je 18—22 °C, zálivka je stejná jako v T-testu s rakovinou.

Při bonitaci se nejprve hodnotí napadení háďátkem na kořenovém balu a potom, po odstranění kompostu z rostlin a omytí rostlin ve vodě, napadení rakovinou, a to stejným způsobem jako v polních zkouškách.

VYHODNOCENÍ ZKOUŠEK REZISTENCE

Podle výsledků bonitace ve všech letech zkoušek se kříženec či odrůda zařadí do odpovídající skupiny rezistence či náchylnosti (tab. I a II).

I. Zařazení do skupin rezistence či náchylnosti vůči rakovině brambor — Inclusion in the groups of resistance or susceptibility to potato wart

Skupina rezistence (náchylnosti)	Označení stupně rezistence	Bonitace	
		K-test se stanovením stupně napadení	ostatní testy
Rezistentní	9	stupně 0—2, stupeň 3 nejvýše u 10 % hlíz	"—" a "O"
Slabě rezistentní	7	stupně 0—4	"—" a "O"
Slabě náchylné	5	stupeň 5 nebo stupeň 6 bez nádorů	"—" a "O"
Středně náchylné	3	stupeň 5 nebo 6	nejméně 50 % rostlin "—" nebo "O", zbýva- jící rostliny "R ₁ ", "R ₂ " nejvýše u 5 % rostlin, bez výskytu "R ₃ "
Silně náchylné	1	stupeň 5 nebo 6	silnější napadení než u předchozí skupiny

"—" viz bonitační schéma K-testu

"O", "R₁" až "R₃" viz bonitační schéma polní zkoušky

Podmínkou pro uznání rezistence proti rakovině bramborů (stupně 9 a 7) je alespoň 60% náchylnost kontroly u všech druhů zkoušek nebo alespoň 60 % zdařilých infekcí v K-testu se stanovením stupně napadení. Podmínkou pro uznání slabší náchylnosti (stupně 5 a 3) je alespoň 60% náchylnost kontroly ve stupních R₂ či R₃.

Podmínkou pro uznání stupňů rezistence 9—3 vůči háďátku bramborovému je alespoň 60 % kontrolních rostlin s více než 50 cystami na kořenovém balu.

II. Zařazení do skupin rezistence či náchylnosti vůči háďátku bramborovému — Inclusion in the groups of resistance or susceptibility to the potato root eelworm

Skupina rezistence (náchylnosti)	Označení stupně rezistence	Bonitace	
		počet cyst na kořenovém balu 1 rostliny	$P_f : P_i$
Rezistentní	9	0—5	0—0,4
Slabě rezistentní	7	6—15	nejvýše 1,0
Slabě náchylné	5	6—15	více než 1,0
Středně náchylné	3	16—30	—
Silně náchylné	1	více než 30	—

NOVÝ SYSTÉM TESTOVÁNÍ A JEHO ZHODNOCENÍ

Šlechtitelské stanice posílají křížence do zkoušek rezistence proti rakovině patotypu D₁ a háďátku patotypu Ro₁ od druhé nebo třetí polní generace. Testování probíhá podle tohoto schématu uvedeného v tab. III.

III. Schéma testování — Scheme of the tests

Rok	Druh testu	Období	Potřeba hlíz	
			ke zkoušce	celkem (s rezervou)
1.	K-test na rakovinu	podzim-zima	3	4
2.	T-test na rakovinu a hádátka	podzim-zima	3	4
3.	T-test na rakovinu a hádátka nebo T-test či polní zkouška na rakovinu	jaro	3	4
4.	polní zkouška na rakovinu	jaro	9	12
	H-test na hádátka	jaro	9	12
5. (po 1. roce mezista- ničních zkoušek)	K-test na rakovinu se stanovením stupně napadení	podzim-zima	21	28
	polní zkouška na rakovinu	jaro	18	24
	H-test na hádátka se zjištěním asanačního efektu	jaro	9	12

V laboratorních testech se na každých 10—30 vzorků u rakoviny a 30—50 vzorků u hádátka zařazuje silně náchylná kontrolní odrůda ve stejném počtu hlíz jako jednotlivé vzorky.

Po zjištění náchylnosti k rakovině během prvních čtyř let zkoušek (bonitace „+“ nebo „R₁—R₅“) se kříženec z dalších zkoušek vylučuje. Výjimečně lze v testování pokračovat, bylo-li ve čtvrtém roce zjištěno jen ojedinělé napadení ve stupni R₁. Do státních zkoušek je možné přihlásit křížence se stupni rezistence 9—3. V případě stupňů 5 a 3 však musí mít vynikající hospodářské vlastnosti a rezistenci nebo jen slabou náchylnost (stupeň 9—5) k agresivním patotypům rakoviny.

Po zjištění jasné náchylnosti k hádátka (více než 15 cyst na kořenovém balu jedné rostliny) se kříženec dále testuje jen na rezistenci proti rakovině.

Zavedení nového systému a metod testování rezistence přináší tyto hlavní výhody:

— při společném testování na rezistenci proti rakovině a hádátka se podstatně (téměř o 50 %) snižuje spotřeba práce a hlízového materiálu;

— T-test snižuje spotřebu inokulační směsi ve zkouškách s hádátkem (asi 3—4krát), potřebu předpěstování nádorů pro K-testy a rozsah polních zkoušek s rakovinou (nejméně o 20 %);

— K-test se stanovením stupně napadení podstatně omezuje možnost vyloučení křížence pro náchylnost k rakovině až ve státních zkouškách;

— H-test se stanovením asanačního efektu poskytuje cennou informaci o vhodnosti rezistentní odrůdy k biologické asanaci pozemků zamořených hádátkem.

Literatura

- DUNNETT, J. M.: Variation in pathogenicity of the potato root eelworm (*Heterodera rostochiensis* Woll.): Technique and results of testing wild potatoes for resistance. Tagungsberichte (Dtsch. Akad. Landwirtschaft.), 20, 1959, s. 107-120.
- GLYNNE, M. D.: Infection experiments clones for resistance to *Globodera rostochiensis* (Ro1) and *Globodera pallida* (Pa2 and Pa3) by root-ball screening. EPPO Bull., 15, 1985, s. 193-198.
- HANSEN, L. M.: Testing potato clones for resistance to *Globodera rostochiensis* (Ro1) and *Globodera pallida* (Pa2 and Pa3) by root-ball screening. EPPO Bull., 15, 1985, s. 193-198.
- HUIJSMANN, C. A.: Prüfungsmethoden zur Ermittlung der Populationsdynamik des Kartoffelälchens und der Nematodenresistenz, ihre Fehlerquellen und ihre Begrenzung. Tagungsberichte (Dtsch. Akad. Landwirtschaft.), 20, 1959, s. 5-13.
- KORT, J. — ROSS, H. — RUMPENHORST, J. H. — STONE, A. R.: An international scheme for identifying and classifying pathotypes of potato cyst-nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. Nematologica, 23, 1977, s. 333-339.
- LEMMERZAHN, J.: Neues vereinfachtes Infektionsverfahren zur Prüfung von Kartoffelsorten auf Krebsfestigkeit. Züchter, 2, 1930, s. 288-297.
- POTOČEK, J. — HUSÁK, M. — NOVOTNÁ, A. — ET AL.: Ochrana proti šíření rakoviny brambor a háďátka bramborového. Met. Zavád. Výsl. Výzk. Praxe, 1983, č. 6, 105 s.
- SPIECKERMANN, A. — KOTTHOFF, P.: Die Prüfung von Kartoffeln auf Krebsfestigkeit. Dtsch. Landwirtschaft. Presse, 51, 1924, s. 114-115.
- ŠEDIVÝ, J.: Studium agresivních biotypů háďátka bramborového (*Heterodera rostochiensis* Woll.) v ČSSR. [Závěrečná zpráva.] Praha-Ruzyně, Výzk. Úst. rostl. Výr., 1962, 36 s.
- THIEDE, H. — WIERLING, F.: Zur Methodik der Krebsresistenzprüfung im Laboratorium. Nachr.-Bl. Dtsch. Pfl.-Schutzdienst (Braunschweig), 12, 1960, s. 171-172.
- ULLRICH, J.: Die Prüfungen von Kartoffelsorten und Kartoffelzuchtstämmen auf Resistenz gegenüber den Biotypen des Kartoffelkrebserreger (*Synchytrium endobioticum*). Nachr.-Bl. Dtsch. Pfl.-Schutzdienst (Braunschweig), 11, 1959, s. 10-12.
- ZAKOPAL, J. — SPITZOVÁ, B.: Zlepšená metoda laboratorního zkoušení kříženců brambor na vzdornost k rakovině bramborů. In: Věd. Práce Výzk. Úst. rostl. Výr. Praha, 1955, s. 171-175.
- First report of the working party on potato wart disease. Paris, 1977, s. 11-28.
- EPPO Panel on potato wart disease. Praha, 1982, s. 9.

Došlo dne 18. 3. 1987

ПОТОЧЕК, Я. — БРОЖ, Й. (ОСЕВА — Научно-исследовательский и селекционный институт картофелеводства, Гавличув Брод): Новая система тестирования устойчивости картофеля к раку картофеля (*Synchytrium endobioticum*) и картофельной нематоды (*Globodera rostochiensis*). Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 47-56.

В отдельном рабочем пункте Научно-исследовательского и селекционного института картофелеводства в Шлукнове была заведена новая система тестирования устойчивости гибридов картофеля к раку картофеля и картофельной нематоды. Система основана на техническом усовершенствовании до настоящего времени используемых методов инокуляции и на успешной проверке возможности совместного тестирования устойчивости к обоим карантинным вредным факторам в лаборатории с использованием специальных инокуляционных трубок. Новая система снижает расход работы, клубней картофеля, инфекционного материала для их инокуляции и ведет к улучшению качества опытов устойчивости.

Synchytrium endobioticum (Schilb.) Perc., *Globodera rostochiensis* (Woll.); картофель; качества тестов устойчивости.

POTOČEK, J. — BROŽ, J. (OSEVA — Research and Breeding Institute of Potato Growing, Havlíčkův Brod): A New System of Testing the Resistance of Potatoes to Potato Wart (*Synchytrium endobioticum*) and Potato Root Eelworm (*Globodera rostochinensis*). Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 47-56.

At the Šluknov Station of the Research and Breeding Institute of Potato Growing we introduced a new system of testing the resistance of potato hybrids to potato wart and potato root eelworm. The system is based on a technical improvement of the traditional methods of inoculation and on successful verification of a possibility of jointly testing the resistance to both quarantine harmful agents under laboratory conditions with the use of special inoculation tubes. The new system reduces the requirement for labour, potato tubers and infection material for tuber inoculation, and leads to an improvement of the resistance tests.

Synchytrium endobioticum (Schilb.) Perc.; *Globodera rostochiensis* (Woll.); potatoes; resistance testing

POTOČEK, J. — BROŽ, J. (OSEVA — Institut für Kartoffelforschung und -züchtung, Havlíčkův Brod): Neues System der Resistenzprüfung von Kartoffeln gegen Kartoffelkrebs (*Synchytrium endobioticum*) und Kartoffelnematoden (*Globodera rostochinensis*). Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 47-56.

An der Zweigarbeitsstätte des Inst. für Kartoffelforschung und -züchtung in Šluknov wurde ein neues System der Resistenzprüfung von Kartoffelhybriden gegen Kartoffelkrebs und Kartoffelnematoden eingeführt. Dieses System beruht auf einer Vervollkommnung der bisher angewandten Inokulationsmethoden und auf einer erfolgreichen Bekräftigung der Möglichkeit einer gemeinsamen Testung der Resistenz gegenüber beiden angeführten Quarantäneschadern im Labor unter Einsatz spezieller Inokulationsröhren. Das neue System setzt den Aufwand an Arbeit, Kartoffelnollen, und für die Inokulation erforderlichem Material herab und führt zu einer Qualitätserhöhung der Resistenzprüfungen.

Synchytrium endobioticum (Schilb.) Perc.; *Globodera rostochiensis* (Woll.); Kartoffeln; Resistenzprüfung

Adresy autorů:

Ing. Jan Potoček, OSEVA — Výzkumný a šlechtitelský ústav bramborářský v Havlíčkově Brodě, laboratoř karantenních chorob a škůdců, Sekaninova 54, 128 00 Praha 2 - Nusle

Josef Brož, OSEVA — Výzkumný a šlechtitelský ústav bramborářský v Havlíčkově Brodě, laboratoř karantenních chorob a škůdců, pracoviště Kunratice, 407 77 Šluknov

VLIV REZIDUÍ VYBRANÝCH HERBICIDŮ V PŮDĚ NA NÁSLEDNÉ PLODINY

L. Buryšková

BURYŠKOVÁ, L. (Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Brno): *Vliv reziduí vybraných herbicidů v půdě na následné plodiny*. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 57-70.

V letech 1984 a 1985 byl sledován vliv reziduí nejpoužívanějších herbicidních látek ze skupiny triazinů (atrazine, simazine, terbutryn a terbutylazine) na vybrané polní plodiny (pšenice ozimá, ječmen jarní, cukrová řepa). Naše modelové nádobové pokusy simulovaly polní podmínky. Relativní hodnoty získané všemi způsoby hodnocení vlivu reziduí na rostliny navzájem dobře korespondovaly. Na základě nádobových pokusů byly stanoveny maximálně přípustné hodnoty reziduí jednotlivých látek na vytypované zástupce polních plodin. Limitní obsah reziduí atrazinu v půdě pro pšenici ozimou a ječmen jarní leží v rozmezí hodnot 0,20 až 0,30 mg na 1 kg půdy, pro cukrovku mezi 0,05 až 0,10 mg na 1 kg půdy. Maximálně přípustná hladina reziduí simazinu pro obě obilniny činí 0,20 až 0,35 mg/kg, pro cukrovku 0,05 až 0,10 mg/kg. U látek terbutryn a terbutylazine kritická úroveň pro poškození pšenice i ječmene leží v rozpětí 0,25 až 0,40 mg na 1 kg půdy, pro cukrovku činí toto rozpětí 0,10 až 0,25 mg na 1 kg půdy. Maximálně přípustné hodnoty budou sloužit jako vodítko pro praxi při výběru následné plodiny u pozemků, kde se předpokládají nebo budou stanovena rezidua herbicidu v půdě z předchozích let a při diagnostice příčin poškození rostlin.

atrazine; simazine; terbutryn; terbutylazine; rezidua v půdě; limitní hodnoty; pšenice ozimá odrůda 'Vala'; ječmen jarní odrůda 'Mars'; cukrová řepa odrůda 'Dobrovická A'

Herbicide na bázi triazinů patří k nejpoužívanějším pesticidům v čs. zemědělské výrobě. Používají se prakticky do porostů všech plodin kromě řepy cukrové a krmné. Jsou látkami v půdě značně persistentními a jejich rezidua mohou nepříznivě ovlivnit a často i ovlivňují následné plodiny. V letech 1984 a 1985 byl v nádobových pokusech sledován vliv reziduí nejvíce a nejčastěji používaných triazinů na vybrané zemědělské plodiny s cílem stanovit maximálně přípustné hodnoty obsahu reziduí v půdě.

Maximálně přípustnou hodnotou rozumíme limitní obsah reziduí pesticidu v půdě, při níž ještě nevznikají na kulturní plodině hospodářsky významné škody. Vztahy mezi úrovní hladiny zbytků pesticidů v půdě a poškozením kulturní plodiny jsou značně proměnlivé a závislé na mnoha činitelích (druh a typ půdy, průběh teplot, množství srážek, biologická aktivita půdy, způsob obdělávání půdy a podobně). Proto i limitní prahy nemohou být konstantní hodnotou, ale rozsahem hodnot.

Vliv reziduí vybraných triazinů (atrazine, simazine, terbutryn a terbuthylazine) byl sledován, aby mohly být stanoveny maximálně přípustné hodnoty reziduí v půdě vzhledem k poškození následných plodin. Biologickými metodami jsme určovali prahy citlivosti fytotoxického působení reziduí čtyř zástupců triazinů v půdě na vytypované polní plodiny. Z polních plodin byly ke sledování vybrány pšenice ozimá (odrůda 'Vala'), ječmen jarní (odrůda 'Mars') a řepa cukrová (odrůda 'Dobrovická A'). Naše modelové nádobové pokusy ve skleníku a vegetační hale simulovaly polní podmínky. Skleníkové pokusy byly založeny v kontejnerech z PVC o rozměrech 300 × 300 mm a hloubce 150 mm. Ve vegetační hale byly použity Mitscherlichovy nádoby (výška půdního profilu zde byla 200 mm). Každá nádoba byla naplněna zemínou (na vzduchu vyschlá půda) o hmotnosti 5 až 6 kg podle druhu a typu půdy.

Použité herbicidní látky

Účinná látka herbicidu	Obsah ú. l. (%)	Název přípravku	Výrobce
atrazine	50,0	Zeazin 50 DP	CHZJD, n. p. Bratislava
	40,0	Zeazin S 40	CHZJD, n. p. Bratislava
	20,0	Zeazin mix	CHZJD, n. p. Bratislava
	46,0	Gesaprim 50	Ciba Geigy, Švýcarsko
	23,4	Totazin DKV	CHZJD, n. p. Bratislava
simazine	50,0	Simazin 50 WP	Sojuzchimexport, SSSR
	8,0	Dosamix	Sandoz, Švýcarsko
	48,5	Gesatop 50	Ciba Geigy, Švýcarsko
	2,0	Gesatop 2 G	Ciba Geigy, Švýcarsko
	12,5	Selektin kombi	CHZJD, n. p. Bratislava
	3,0	Trazalex	VEB Berlin Chemie, NDR
	4,5	Trazalex extra	VEB Berlin Chemie, NDR
terbutryn a	33,0	Topogard 50 WP	Ciba Geigy, Švýcarsko
terbuthylazine	14,4	Topogard 50 WP	Východočeské chemické závody Synthesia, n. p. Pardubice-Semtin

Ošetření pesticidem bylo provedeno homogenizací zeminy s příslušným množstvím postřikové kapaliny v mixážním bubnu tak, aby herbicid byl stejnoměrně rozptýlen v celém půdním profilu každé nádoby. K aplikaci účinné látky atrazine byl použit herbicidní přípravek Zeazin 50 DP. Herbicid Simazin 50 WP byl výchozím materiálem pro rezidua simazinu a v případě terbutrynu a terbuthylazinu byl použit přípravek Topogard 50 WP.

K pokusům byly použity půdy tří druhů: lehkou zeminu zastupovala hlinitopísčítá půda, středně těžkou hlinitá půda a těžkou zeminu hlinitojílovitá půda (tab. I).

Do půdy v nádobách nebo kontejnerech jsme zaseli do hloubky 2,5 až 3,0 cm po 30 zrnek pšenice ozimé, ječmene jarního nebo osivo (obalované) řepy cukrové, nejméně ve třech opakováních pro každou variantu. Každý z herbicidů byl aplikován v dávce od 0,05 do 1,0 mg účinné látky na 1 kg půdy. Takto připravené pokusy byly sledovány v konstantních podmínkách ve skleníku za použití bezodtokových kontejnerů a ve vegetační hale, kde nádoby simulovaly prostředí polních podmínek. Všechny nádoby byly podle potřeby zalévány tak, aby nedošlo k promývání herbicidů z půdy. Nádobové pokusy ve skleníku především sloužily k tomu, aby byla získána hrubá orientace, kde a mezi kterými koncentracemi jednotlivých herbicidů u pšenice, ječmene a cukrovky dochází k počátečnímu až silnému poškození rostlin a v jakém časovém rozpětí. Ve vegetační hale se pak mohlo upřesnit rozmezí dávkování jednotlivých herbicidů pro každou plodinu samostatně.

Účelem našich pokusů bylo ověřit nejprve fytotoxicitu počátečních reziduí herbicidů v půdě na každou plodinu v závislosti na půdním druhu, a tím současně zjistit k jakým škodám dochází, abychom mohli stanovit mez (práh) citlivosti této plodiny na rezidua jednotlivých herbicidů. Během let 1984 a 1985 byl takto ověřo-

Označení půdy	pH	Obsah přijatelných živin z půdy (mg.kg ⁻¹)			Obsah frakcí v % (zrntostní složení)						Organický uhlík	Hu- mus
		P	K	Mg	0,01 mm	0,001 mm	0,001 -0,01	0,01 -0,05	0,05 -0,25	0,25 - 2 mm	(%)	
Lehká	7,3	256	255	55	12,0	6,5	5,5	7,5	34,0	46,5	0,72	1,23
Střední	7,2	145	196	230	33,8	17,6	16,2	24,9	19,8	21,5	1,73	2,97
Těžká	7,6	225	545	386	35,8	24,2	11,6	16,5	30,9	16,8	2,00	3,44

Zeminy použité k nádobovým pokusům byly naprosto čisté, bez obsahů triazinových látek, což bylo předem ověřeno chemickou analýzou.

Podobné biologickými testy byla ověřena fytotoxicita půdy a případná její zasolenost, čímž byla prokázána nezávadnost zemin a jejich vhodnost k pokusům.

ván vliv jednotlivých látek na každou plodinu, sledováno snížení vzcházejivosti rostlin, posuzován habitus rostlin, měřena výška rostlin v různých fázích růstu, sledováno odnožování u obilnin, porovnávány počty rostlin v jednotlivých variantách koncentrací přípravků, posuzován úbytek čerstvé hmoty rostlin a zaznamenávány každé fytotoxické příznaky během celé doby sledování biologických pokusů.

Pro jednotlivá hodnocení z každé nádoby jedné varianty bylo ustříženo těsně nad půdou 25 rostlin. Všechny tyto rostliny se změřily a zjistila se jejich čerstvá hmotnost. Potom se vypočítala průměrná délka a hmotnost jedné rostliny pro příslušnou variantu a výsledky se vyjádřily v procentech kontroly. Tyto relativní hodnoty byly vyneseny na milimetrový papír a zpracovány do grafů.

Nádobové pokusy se všemi herbicidy byly postupně založeny ve čtyřech termínech (podzim 1984, jaro, léto a podzim 1985), avšak vliv teplot a srážek na poškození plodin se projevoval pouze v rychlosti působení reziduí triazinových látek na rostliny. Vliv herbicidů na výnos nebyl sledován. Nádobové pokusy v jednotlivých termínech trvaly dva až tři měsíce.

Protože všechny údaje dávek herbicidů jsou uváděny v koncentracích ppm nebo mg účinné látky na 1 kg půdy, pokládáme za vhodné naznačit výpočet dávky herbicidu z těchto hodnot na dávku v kg/ha. Pro tento výpočet je důležitá měrná hmotnost půdy, což závisí na typu půdy. Konstantní faktor k přepočtu činí 2,0 (pro koncentrace úč. l. vyjádřené v mg na 1 kg půdy) a známe-li měrnou hmotnost půdy (např. 1,3), pak výsledná dávka pesticidu je vyjádřena přímo v kg/ha.

VÝSLEDKY

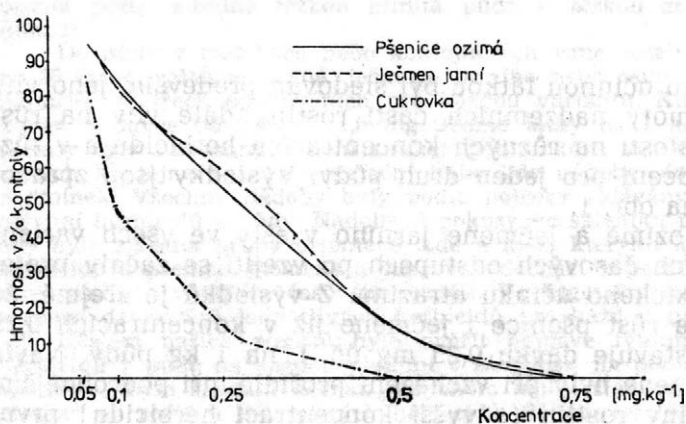
Pokusy s atrazinem

U herbicidu s touto účinnou látkou byl sledován především jeho vliv na snížení čerstvé hmoty nadzemních částí rostlin, dále vliv na růst a vývoj rostlin v závislosti na různých koncentracích herbicidu a v různých termínech hodnocení pro jeden druh půdy. Výsledky jsou zpracovány v tab. II a III a na obr. 1.

Rostliny pšenice ozimé a ječmene jarního vzešly ve všech variantách a teprve v různých časových odstupech po vzejití se začaly projevovat příznaky fytotoxického účinku atrazinu. Z výsledků je zřejmé, že atrazin silně potlačuje růst pšenice i ječmene již v koncentracích 0,25 ppm a více, což představuje dávku 0,25 mg úč. l. na 1 kg půdy. Navíc porosty pšenice a ječmene byly při vzcházení prořídle, při podrobnějším hodnocení byl u většiny rostlin (s vyšší koncentrací herbicidu) první

II. Vliv atrazinu na počet rostlin jednotlivých plodin — The influence of atrazine on the plant number in the different crops

Plodina	Druh půdy	Koncentrace [mg/kg]	Počet rostlin v % kontroly		
			při vzcházení	za 21 dnů	za 40 dnů
Pšenice ozimá	střední	0,05	105	95	85
		0,10	99	90	70
		0,25	95	87	35
		0,50	90	80	20
		0,55	88	75	10
		0,60	85	50	5
		0,65	80	30	0
		0,70	80	20	0
		0,75	75	10	0
Ječmen jarní	střední	1,00	70	5	0
		0,50	95	80	18
		0,55	89	70	7
		0,60	80	30	4
		0,65	76	20	0
		0,70	72	10	0
		0,75	70	5	0
Cukrovka	střední	1,00	65	0	0
		0,05	96	84	78
		0,10	89	65	53
		0,25	75	45	20
		0,30	56	35	5
		0,40	40	30	0
		0,45	30	20	0
		0,50	20	5	0



1. Vliv reziduí atrazinu na pšenici ozimou, ječmen jarní a cukrovku (snížení hmotnosti rostlin za 63 dní po aplikaci) — The influence of atrazine residues on winter wheat, spring barley and sugar-beet (reduction of plant weight 63 days after application)

Koncentrace herbicidu [mg.kg ⁻¹]	Druh půdy	Pšenice ozimá		Ječmen jarní		Cukrovka	
		průměrná délka rostlin v % kontroly					
		za 8 dní	za 21 dní	za 8 dní	za 21 dní	za 8 dní	za 21 dní
0,05	středni	100,00	93,70	100,00	100,64	100,00	94,78
0,10		90,57	93,44	98,28	96,23	100,00	49,58
0,25		84,30	88,52	92,41	92,75	100,00	49,58
0,50		83,02	82,38	82,76	84,43	75,00	32,15
0,75		83,02	68,30	75,86	63,51	66,67	0,00
1,00		75,47	46,98	74,14	38,68	58,33	0,00

list úplně uschlý a špičky dalších listů byly zaschlé. Rostliny byly opožděny ve vzrůstu, začaly i později odnožovat, ve vyšších koncentracích došlo k postupnému úhynu rostlin. Se stoupající dávkou herbicidu bylo poškození výraznější. Maximálně přípustnou hranicí pro pšenici ozimou a ječmen jarní se zdá hodnota od 0,20 do 0,30 mg/kg. Z výsledků vyplývá, že ječmen jarní reaguje citlivěji na rezidua atrazinu v půdě než pšenice ozimá.

U řepy cukrové od koncentrace herbicidu 0,5 mg/kg a výše rostliny vůbec nevzešly. Jednoznačně nejcitlivější z vybraných plodin se ukázala cukrovka, a to již od koncentrace 0,05 a 0,10 mg/kg. Porosty řepy byly při vzházení prořídle, postupně docházelo k retardaci rostlin až k úplnému jejich úhynu. Limitní práh pro cukrovku leží v rozmezí hodnot 0,05 až 0,1 mg/kg.

Pokusy se simazinem

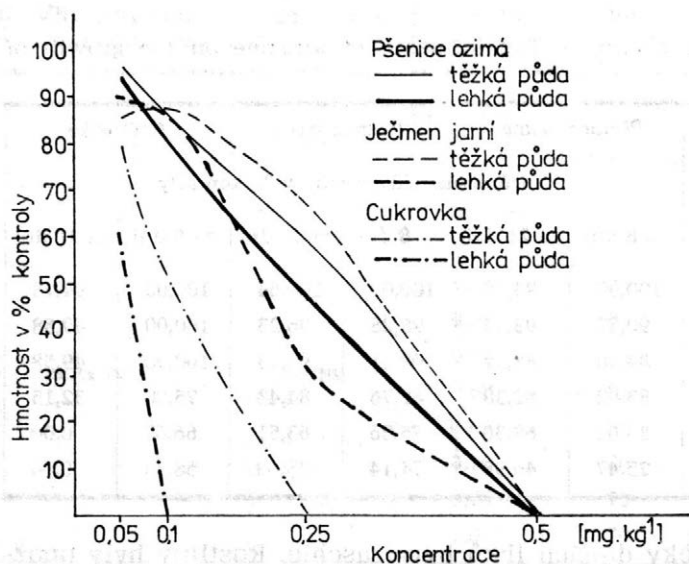
Pro zjištění vlivu druhu půdy na rychlost a průběh poškození rostlin byla použita lehká a těžká půda. Vliv simazinu na hmotnost rostlin je vidět z obr. 2, ostatní výsledky korespondují s tímto ukazatelem. Výsledky se simazinem jsou obdobné se závěry pro atrazin pouze pro těžkou zeminu, avšak u půdy lehké se maximálně přípustná hranice pro pšenici a ječmen posunula na hodnotu do 0,20 mg/kg a u cukrovky na hodnotu do 0,05 mg/kg (tab. IV a V).

Pokusy s terbutrynem a terbutylazinem

Pro tyto nádobové pokusy byly použity všechny tři druhy půd. Výsledky vlivu obou látek na pšenici, ječmen a cukrovku jsou v tab. VI a VII a na obr. 3.

Prahy citlivosti pšenice a ječmene na obě tyto látky v porovnání s atrazinem a simazinem jsou nepatrně posunuty k vyšším hodnotám, tj. 0,25—0,40 mg/kg. Maximálně přípustná hladina reziduí těchto herbicidních látek pro cukrovku činí 0,10—0,25 mg/kg.

Z těchto i předchozích nádobových pokusů lze vyvodit, že na půdách lehkých s vysokým obsahem písčitých částic může dojít spíše k poško-



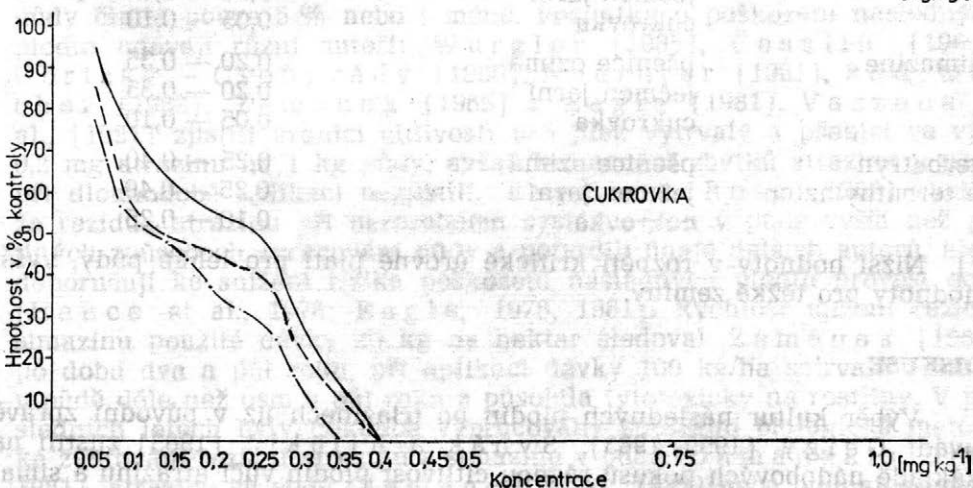
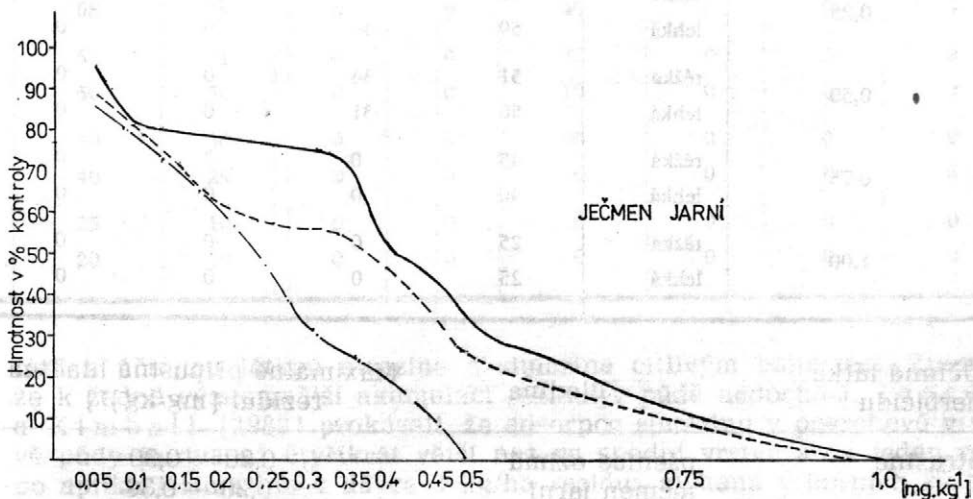
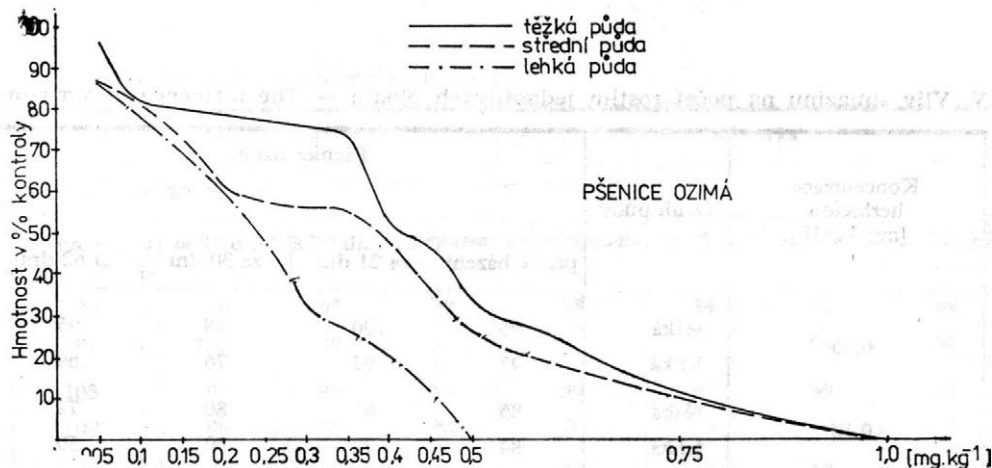
2. Vliv reziduí simazinu na pšenici ozimou, ječmen jarní a cukrovku (snížení hmotnosti rostlin za 63 dní po aplikaci) — The influence of simazine residues on winter wheat, spring barley and sugar-beet (reduction of plant weight 63 days after application)

IV. Vliv simazinu na růst plodin — The influence of simazine on the growth of crops

Koncentrace herbicidu [mg. kg ⁻¹]	Druh půdy	Pšenice ozimá			Ječmen jarní			Cukrovka		
		průměrná délka rostlin v % kontroly za								
		15 dní	21 dní	30 dní	15 dní	21 dní	30 dní	15 dní	21 dní	30 dní
0,05	těžká	100,00	98,01	96,67	100,00	100,00	100,00	120,00	92,31	90,91
	lehká	105,00	110,00	100,00	109,52	98,45	92,59	95,71	94,00	94,44
0,10	těžká	100,00	100,00	100,00	96,83	94,00	93,94	100,00	81,20	63,64
	lehká	95,00	88,00	84,00	95,24	89,48	85,19	57,14	23,17	0,00
0,25	těžká	90,00	68,91	0,00	91,67	86,97	81,82	80,00	51,31	31,82
	lehká	80,00	32,91	0,00	90,48	65,87	44,44	0,00	0,00	0,00
0,50	těžká	75,00	33,68	0,00	70,83	37,25	0,00	40,00	0,00	0,00
	lehká	50,00	0,00	0,00	56,67	31,15	0,00	0,00	0,00	0,00
0,75	těžká	35,00	0,00	0,00	41,67	0,00	0,00	20,00	0,00	0,00
	lehká	45,00	0,00	0,00	42,86	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1,00	těžká	30,00	0,00	0,00	33,33	0,00	0,00	10,00	0,00	0,00
	lehká	40,00	0,00	0,00	32,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

zení citlivé plodiny reziduí herbicidů než na půdách těžkých. Velkou roli zde má obsah jílovitých částí a humusu. Čím je těchto složek v půdě méně, tím více a rychleji se projeví poškození rostlin.

Podle našich pokusů byly stanoveny maximálně přípustné hodnoty jednotlivých herbicidů pro pšenici ozimou, ječmen jarní a cukrovku:



3. Vliv reziduí terbutrynu a terbutylazinu na pšenici ozimou, ječmen jarní a cukrovku (snížení hmotnosti rostlin za 77 dní po aplikaci) — The influence of terbutryn and terbutylazine residues on winter wheat, spring barley and sugar-beet (reduction of plant weight 77 days after application)

Koncentrace herbicidu [mg . kg ⁻¹]	Druh půdy	Pšenice ozimá			
		počet			
		při vzházení	za 21 dní	za 30 dní	za 62 dní
0,05	těžká	95	100	98	95
	lehká	97	92	76	69
0,10	těžká	85	81	80	72
	lehká	84	72	60	59
0,25	těžká	60	51	45	44
	lehká	59	46	0	0
0,50	těžká	51	34	0	0
	lehká	50	31	0	0
0,75	těžká	45	0	0	0
	lehká	40	0	0	0
1,00	těžká	25	0	0	0
	lehká	25	0	0	0

Účinná látka herbicidu	Plodina	Maximálně přípustná hladina reziduí (mg/kg) ^x
atrazine	pšenice ozimá	0,20 — 0,30
	ječmen jarní	0,20 — 0,30
	cukrovka	0,05 — 0,10
simazine	pšenice ozimá	0,20 — 0,35
	ječmen jarní	0,20 — 0,35
	cukrovka	0,05 — 0,10
terbutryn a terbuthylazine	pšenice ozimá	0,25 — 0,40
	ječmen jarní	0,25 — 0,40
	cukrovka	0,10 — 0,25

^x) Nižší hodnoty v rozpětí kritické úrovně platí pro lehké půdy, vyšší hodnoty pro těžké zeminy.

DISKUSE

Výběr kultur následných plodin po triazinech již v původní zprávě uvádí Geigy (1959, 1963). Synák a Kljakič (1963) zjistili na základě nádobových pokusů různou citlivost plodin vůči atrazinu a simazinu, přičemž mezi plodiny velmi citlivé zařadili cukrovku. Kramer (1961) seřadil obilniny podle citlivosti na simazin v tomto pořadí: ječmen jarní, pšenice jarní, oves, pšenice ozimá, žito ozimé. Damaniakis, Dris (1981) sledovali vliv teploty a vlhkosti na degradaci herbi-

Ječmen jarní				Cukrovka			
roślin v % kontroly							
při vzcházení	za 21 dní	za 30 dní	za 62 dní	při vzcházení	za 21 dní	za 30 dní	za 60 dní
98	99	97	90	95	84	71	69
106	100	99	98	90	81	64	56
105	96	89	85	89	65	50	11
100	99	98	98	70	50	0	0
70	61	50	35	70	42	10	9
68	38	6	0	40	0	0	0
53	51	0	0	30	0	0	0
50	50	0	0	10	0	0	0
40	30	0	0	10	0	0	0
40	29	0	0	0	0	0	0
25	10	0	0	0	0	0	0
20	10	0	0	0	0	0	0

cidů s účinnou látkou atrazine a simazine citlivým biotestem. Zjistili, že k žádné významnější akumulaci reziduí v půdě nedochází. Jensen a Kimball (1982) prokázali, že adsorpce simazinu v povrchové vrstvě půdy je dva až čtyřikrát větší než ve spodní vrstvě a za jeden rok po aplikaci simazinu v dávce 3 kg/ha rezidua zjištěná v horních 25 cm půdy činila pouze 5 % nebo i méně. Poznatky o poškození následných plodin udávají různí autoři: Wurgler (1985), Česalin (1960), Ubrizsy — Csongrády (1960), Neururer (1961), Rademacher (1962), Zemánek (1965) a Eagle (1981). Vazzana et al., (1981) zjistili hranici citlivosti pro jilek vytrvalý a pšenici ve výši 0,2 mg atrazinu na 1 kg půdy, avšak hromadění zbytků atrazinu v půdě při dlouhodobé aplikaci nezjistili. Baymann, Ross (1983) zjistili, že rezidua atrazinu při bezorebném systému jsou v půdě vyšší než při jiných způsobech zpracování půdy a potvrdili údaje dalších autorů, kteří doporučují ke snížení rizika poškození následných plodin provést orbu (Hance et al., 1978; Eagle, 1978, 1981). Rychlost mizení reziduí simazinu použité dávky 20 kg na hektar sledoval Zemánek (1983) po dobu dva a půl roku, při aplikaci dávky 100 kg/ha setrvala rezidua v půdě déle než osm a půl roku a působila fyto toxicky na rostliny. V posledních letech byly dokonce vypracovány speciální biologické metody ke zjišťování reziduí atrazinu a simazinu v půdě (Damanaakis, Dris, 1981), atrazinu ve vodě (Zemánek et al., 1975) nebo biologické testy (Benada, Váňová, 1977; Kováč et al., 1980). Podkladem testů je využití přítomnosti fyto toxických látek v půdě nebo vodě inhibujících fyto syntézu (využití chloroplastů, Hillova reakce).

VI. Vliv terbutrynu a terbutylazinu na růst a vývoj plodin — The influence of terbutryn and terbutylazine on the growth and development of crops

Koncentrace herbicidu [mg. kg ⁻¹]	Druh půdy	Ječmen jarní		Pšenice ozimá		Cukrovka	
		průměrná délka rostlin v % kontroly					
		za 25–30 dny	za 40–45 dny	za 25–30 dny	za 40–45 dny	za 25–30 dny	za 40–45 dny
0,05	těžká	102,75	98,78	91,45	95,24	101,12	95,13
	střední	97,85	99,41	96,26	98,01	94,17	94,02
	lehká	100,00	105,81	98,80	99,75	69,09	85,71
0,10	těžká			89,86	94,71	100,00	84,86
	střední			91,69	96,01	68,93	88,89
	lehká			97,62	96,32	51,07	67,70
0,15	těžká	99,25	92,01	87,82	92,59	93,42	80,54
	střední	95,75	98,82	85,03	93,76	67,96	64,62
	lehká	96,86	95,35	92,26	92,89	0,00	0,00
0,20	těžká			85,23	90,73	84,21	73,78
	střední			84,76	92,63	34,95	63,38
	lehká			90,76	89,94	0,00	0,00
0,25	těžká	94,89	91,55	83,56	90,42	70,22	64,07
	střední	89,23	91,33	84,49	92,31	0,00	0,00
	lehká	91,45	93,25	87,50	85,42	0,00	0,00
0,30	těžká			83,42	87,04		
	střední			84,03	90,59		
	lehká			82,73	85,05		
0,35	těžká	90,86	89,83	81,36	81,22		
	střední	82,76	84,36	81,62	89,74		
	lehká	89,46	88,83	80,47	81,66		
0,40	těžká			80,54	82,11		
	střední			81,15	89,45		
	lehká			79,15	82,41		
0,45	těžká	89,51	87,65	78,63	80,95		
	střední	80,92	77,69	78,91	85,75		
	lehká	86,87	85,34	77,30	80,63		
0,50	těžká			78,35	78,83		
	střední			73,80	86,11		
	lehká			76,26	80,15		
0,55	těžká	83,33	89,97				
	střední	74,46	76,99				
	lehká	81,06	83,73				
0,65	těžká	81,25	83,12	75,06	74,81		
	střední	65,03	61,15	71,24	79,60		
	lehká	75,75	76,98	67,85	78,92		
0,75	těžká	67,20	71,39	70,21	73,55		
	střední	49,63	43,20	63,89	68,83		
	lehká	71,22	70,23	61,90	75,49		
1,00	těžká	59,13	58,68	58,55	59,44		
	střední	47,05	41,86	58,14	57,50		
	lehká	68,68	69,07	56,99	69,36		

VII. Vliv terbutrynu a terbuthylazinu na počet rostlin jednotlivých plodin — The influence of terbutryn and terbuthylazine on the plant number in the different crops

Koncentrace herbicidu [mg. kg ⁻¹]	Druh půdy	Ječmen jarní			Pšenice ozimá			Cukrovka		
		počet rostlin v % kontroly								
		při vzcházení	za 40 dní	za 80 dní	při vzcházení	za 40 dní	za 80 dní	při vzcházení	za 40 dní	za 80 dní
0,05	těžká				100	108	98	98	95	80
	střední				100	105	96	95	86	71
	lehká				100	102	92	90	70	60
0,10	těžká	100	102	88	98	100	97	80	50	25
	střední	90	96	90	88	98	91	50	25	10
	lehká	93	91	90	88	96	90	20	10	2
0,15	těžká				95	99	95	30	25	20
	střední				90	97	90	20	10	5
	lehká				89	95	89	0	0	0
0,20	těžká				93	98	95	30	20	5
	střední				90	92	90	10	5	3
	lehká				89	90	89	0	0	0
0,25	těžká	90	87	85	90	91	90	24	15	3
	střední	90	80	80	85	86	85	0	0	0
	lehká	80	79	79	80	81	80	0	0	0
0,30	těžká	90	89	90	90	87	85			
	střední	85	83	80	85	83	80			
	lehká	80	79	75	80	78	75			
0,35	těžká	79	72	70	90	83	79			
	střední	65	63	60	75	74	75			
	lehká	60	58	55	65	63	60			
0,40	těžká	75	70	60	80	71	65			
	střední	65	60	50	70	61	55			
	lehká	55	50	45	60	52	45			
0,45	těžká				80	69	60			
	střední				60	52	50			
	lehká				60	47	45			
0,50	těžká	50	50	50	80	56	48			
	střední	45	45	45	55	51	45			
	lehká	40	40	40	45	42	40			
0,55	těžká				60	50	45			
	střední				40	41	40			
	lehká				40	30	20			
0,60	těžká				55	30	30			
	střední				25	20	10			
	lehká				30	10	5			
0,65	těžká				50	25	10			
	střední				25	20	5			
	lehká				20	8	0			
0,75	těžká	30	30	10	30	5	0			
	střední	20	5	3	20	3	0			
	lehká	10	3	2	10	1	0			
1,00	těžká	30	1	0	25	2	0			
	střední	20	0	0	20	1	0			
	lehká	5	0	0	5	0	0			

První biologickou metodou ke zjišťování reziduí atrazinu pomocí úkrojků listů ječmene u nás publikovali Benada, Váňová (1976), pomocí níž bylo možné zjistit až 0,005 mg atrazinu v litru roztoku. Dosavadní biologické testy byly totiž založeny na porovnávání hmotnosti a délky kořínků nebo nadzemních částí citlivých rostlin v porovnání s rostlinami pěstovanými v půdě bez herbicidů. Bylo však zjištěno, že toxicita atrazinu a jiných půdních herbicidů závisí na vnějších podmínkách prostředí, především na světle. Významem světla při projevech škodlivého účinku herbicidu Zeazin na pšenici a ječmen se pak zabývali Benada (1974) a Benada, Váňová (1975). V našich pokusech se vliv vnějších podmínek prostředí na projevy fytotoxicity půdních herbicidů plně potvrdil.

Z obrovského počtu literárních pramenů sestavil Eagle (1978) tabulku limitních hodnot atrazinu a simazinu v závislosti na druhu půdy pro pšenici ozimou:

Herbicid	Druh půdy	Minimální hladina reziduí (mg . kg ⁻¹)
atrazine	písčité a velmi lehké půdy	0,05
simazine	lehké půdy	0,10
	střední půdy	0,15
	těžké půdy	0,20

V žádném z prostudovaných prací nebyla sledována nebo samostatně stanovena hodnota reziduí některého z triazinů, která by byla maximálně přípustnou hranicí fytotoxicity pro následnou plodinu. Proto v ÚKZÚZ odboru KOR v Brně od roku 1984 bylo zahájeno řešení tohoto problému v rámci rozsáhlého úkolu *Zjišťování cizorodých dávek v půdě*.

Literatura

- BAYMANN, T. T. — ROSS, M. A.: Effect of three tillage systems on the persistence of atrazine. *Weed Sci.*, 31, 1983, č. 3, s. 423-426.
- BENADA, J.: Fytotoxické působení Zeazinu na pšenici a ječmen ve skleníkových pokusech. *Sbor. ÚVTI - Ochr. Rostl.*, 10, 1974, č. 1, s. 19-28.
- BENADA, J. — VÁŇOVÁ, M.: Využití křivek dávka-účinek pro testování odrůdové citlivosti obilnin vůči půdním herbicidům. *Sbor. ÚVTI - Ochr. Rostl.*, 11, 1975, č. 4, s. 321-331.
- BENADA, J. — VÁŇOVÁ, M.: Zjišťování reziduí atrazinu biologickou metodou. *Sbor. ÚVTI - Ochr. Rostl.*, 12, 1976, č. 4, s. 307-314.
- BENADA, J. — VÁŇOVÁ, M.: Stanovení reziduí zeazinu v půdě biologickým testem. *Úroda*, 1977, č. 8, s. 381.
- ČESALIN, G. A.: Chimičeskije uničtoženije sorňjakov v kukuruze. *Kukuruza*, 1960, č. 4, s. 48-50.
- DAMANAKIS, M. E. — DRIS, B. T.: Residues of triazine herbicides in a vineyard after long-term application. *Vitis*, 20, 1981, č. 4, s. 329-334.
- EAGLE, D. J.: Interpretation of soil analyses for herbicide residues. In: *Proc. 14th Brit. Weed Control Conf.*, 1978, s. 535-539.
- EAGLE, D. J.: Residue problems encountered in England. *Weed Research Society. Symposium on the theory and practice of the use of soil applied herbicides*. In: *Proc. EWRS*, 1981, s. 201-207.

GEIGY, J. R.: Information aus der Abteilung für Schädlingbekämpfung Atrazin. 1959.

GEIGY, J. R.: Erfahrungen mit einigen Geigy-Herbiziden im Jahre 1962. 1963.

HANCE, R. J. — SMITH, P. D. — BYAST, T. H. — COTTERILL, E. G.: Effects of cultivations on the persistence and phytotoxicity of atrazine and propyzamide. In: Proc. Brit. Crop Protect. Conf., 1978, s. 541-548.

JENSEN, K. I. N. — KIMBALL, E. R.: The comparison of simazine and terbacil in soils. Weed Res., 22, 1982, č. 1, s. 7-12.

KOVÁČ, J. — HENSELOVÁ, M. — SACKMAVEROVÁ, M.: Možnosti detekcie a stanovenia reziduí herbicídov v životnom prostredí technikou inhibície Hillovej reakcie. Agrochémia (Bratislava), 20, 1980, č. 1, s. 20-22.

KRAMER, W.: Erfahrungen mit dem Unkrautbekämpfungsmittel W 6658 im Jahre 1960. Dtsch. Landwirtschaft., 12, 1961, č. 2, s. 83-86.

NEURURER, H.: Nachwirkung der vorjährigen Simazin- und Gesaprimspritzungen zu Mais. Pflanzenarzt, 14, 1961, č. 8, s. 76-77.

RADEMACHER, B.: Folgeschäden des Frostes im Wintergetreide. Z. Pfl.-Krank. Pfl.-Schutz, 69, 1962, s. 602-604.

SYNÁK, J. — KLJAKIČ, V.: Niektoré aspekty používania triazínových herbicídov v kukurici. Agrochémia (Bratislava), 1963, č. 4, s. 69-71; č. 5, s. 89-91.

UBRIZSY, G. — CSONGRÁDY, M.: Ergebnisse der mit Chlor-amonotriazinderivaten in Ungarn durchgeführten Unkrautbekämpfungsversuche. Acta agron. Acad. Sci. hung., 10, 1960, č. 1-2, s. 197-227.

VAZZANA, C. — FRANCI, M. — VECCHIO, V.: Soil persistence, accumulation and phytotoxicity of atrazine residues. Proc. EWRS, 1981, s. 149-155.

WUGLER, W.: Des herbages des champs de maïs. Rev. Rem. Agric., Vit., Arboric., 14, 1958, č. 5, s. 37-39.

ZEMÁNEK, J.: Studium vlivu triazínových herbicídů na následné plodiny. Sbor. ÚVTI - Ochr. Rostl., 1, 1965, č. 2, s. 9-16.

ZEMÁNEK, J.: Rychlost mizení reziduí vysokých dávek herbicídů z půdy. Sbor. ÚVTIZ - Ochr. Rostl., 19, 1983, s. 295-300.

ZEMÁNEK, J. — KOVÁR, J. — ŠTĚRBA, A.: Biologické metody na stanovení reziduí herbicidu 2,4-D a atrazinu ve vodě. Acta hyg., epidem. microbiol., 1975, č. 1, s. 1-6.

Došlo dne 24. 10. 1986

БУРЫШКОВА, Л. (Центральный контрольный институт сельскохозяйственных испытаний, Брно): Влияние остаточных количеств выбранных гербицидов в почве на последующие культуры. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 57-70.

В 1984—1985 гг. наблюдали за влиянием остаточных количеств наиболее используемых гербицидных средств из группы триазинов (атразина, симазина, тербутрина и тербутилазина) на выбранные полевые культуры (пшеница озимая, ячмень яровой, сахарная свекла). Наши модельные опыты в сосудах напоминали полевые условия. Относительные значения полученные всеми способами оценки влияния остаточных количеств на растения друг другу хорошо отвечали. На основе опытов проводимых в сосудах были определены максимально допустимые значения остаточных количеств отдельных веществ влияющих на заранее отобранные представители полевых культур. Предельное содержание остаточных количеств атразина в почве для пшеницы озимой и ячменя ярового находятся в пределах значений 0,20—0,30 мг на 1 кг почвы, для сахарной свеклы между 0,05—0,10 мг на 1 кг почвы. Максимально допустимый уровень остаточных количеств симазина для обоих зерновых хлебов составляет 0,20—0,35 мг/кг, для сахарной свеклы 0,05—0,10 мг/кг. У веществ типа тербутрин и тербутилазине критический уровень для повреждения пшеницы и ячменя находится в интервале 0,25—0,40 мг на 1 кг почвы, для сахарной свеклы составляет этот интервал 0,10—0,25 мг на 1 кг почвы. Максимально допустимые будут служить в качестве примера для практики при диагностике повреждений растений.

атразин; симазин; тербутрин; тербутилазин; остаточные количества в почве; предельные значения; пшеница озимая сорт 'Vala'; ячмень яровой сорт 'Mars'; сахарная свекла сорт 'Dobrovická A'

BURYŠKOVÁ, L. (Central Control and Testing Institute for Agriculture, Brno): *The Influence of Herbicide Residues in the Soil on Subsequent Crops*. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 57-70.

In 1984 and 1985, we studied the influence of the residues of the most often applied herbicides from the triazine group (atrazine, simazine, terbutryn, and terbuthylazine) on selected field crops (winter wheat, spring barley, sugar-beet). Our model pot trials simulated the field conditions. The relative values obtained by all methods of assessing the residue influence on the crops corresponded well. Applying the results of the pot trials, the maximum admissible values of the residues of individual agents on the selected representatives of field crops were determined. The limiting content of atrazine residues in the soil for winter wheat and spring barley varies from 0.20 to 0.30 mg per 1 kg of soil, and for sugar-beet from 0.05 to 0.10 mg per 1 kg of soil. The maximum admissible level of simazine residues for the two cereals makes 0.20 to 0.35 mg/kg, for sugar-beet 0.05 to 0.10 mg/kg. The terbutryn and terbuthylazine critical levels for wheat and barley damage range from 0.25 to 0.40 mg per 1 kg of soil, and for sugar-beet damage from 0.10 to 0.25 mg per 1 kg of soil. The maximum admissible levels will serve as a guide for the practical selection of subsequent crops for plots where herbicide residues in the soil from previous years are to be expected or detected, and for the diagnostics of the causes of crop damage.

atrazine; simazine; terbutryn; terbuthylazine; residues in soil; admissible values; 'Vala' variety of winter wheat; 'Mars' variety of spring barley; 'Dobrovická A' variety of sugar-beet

BURYŠKOVÁ, L. (Zentrales Kontroll- und Prüfungsinstitut für der Landwirtschaft, Brno): *Einfluss der Residuen von ausgewählten Herbiziden im Boden auf nachfolgende Kulturen*. Ochr. Rostl., 24, 1988 (1) : 57-70.

In den Jahren 1984 und 1985 untersuchten wir den Einfluss der Residuen von den am meisten angewendeten Herbizidstoffen der Triazin-Gruppe (Atrazin, Simazin, Terbutryn und Terbuthylazin) auf ausgewählte Feldkulturen (Winterweizen, Sommergerste, Zuckerrübe). Unsere Modellgefäßversuche simulierten die Feldbedingungen. Die Relativwerte, die auf alle Arten und Weisen der Bewertung des Einflusses der Residuen auf die Pflanzen bewertet wurden, standen in einer guten gegenseitigen Korrelation. Aufgrund der Gefäßversuche wurden die maximal zulässigen Werte der Residuen der einzelnen Stoffe auf die ausgewählten Vertreter der Feldkulturen festgelegt. Der limitierende Gehalt des Bodens an Atrazinresiduen für den Winterweizen und die Sommergerste schwankt von 0,20 bis 0,30 mg/1 kg Boden, für die Zuckerrübe von 0,05 bis 0,10 mg/1 kg Boden. Der höchste zulässige Spiegel der Simazinresiduen für die beiden Kulturen beträgt 0,20 bis 0,35 mg/kg, für die Zuckerrübe dann 0,05 bis 0,10 mg/kg. Bei den Stoffen Terbutryn und Terbuthylazine schwankt das kritische Niveau für die Beschädigung des Weizens und der Gerste von 0,25 bis 0,40 mg/1 kg Boden, für die Zuckerrübe von 0,10 bis 0,25 mg/1 kg Boden. Die maximal zulässigen Werte dienen als Richtschnur für die praktische Auswahl der nachfolgenden Kulturen auf den Parzellen, wo Residuen von Herbiziden aus früheren Jahren vorausgesetzt werden als auch bei der Diagnostik der Ursachen der Pflanzenbeschädigungen.

Atrazin; Simazin; Terbutryn; Terbuthylazin; Residuen im Boden; Grenzwerte; Winterweizensorte 'Vala'; Sommergerstensorte 'Mars'; Zuckerrübensorte 'Dobrovická A'

Adresa autorky:

Ing. Libuše Buryšková, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, odbor karantény a ochrany rostlin, Zemědělská 1a, 658 37 Brno

VÝSKYT HOUBY COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES PENZ NA NĚKTERÝCH SKLENÍKOVÝCH ROSTLINÁCH

Při zdravotních prohlídkách skleníků u zahradnických podniků v celé ČSSR se často setkáváme s výskytem houby *Colletotrichum gloeosporioides* Penz (C. g.), která osídluje nekrotické skvrny na listech nebo jiných orgánech mnoha okrasných rostlin. Vytváří na skvrnách soustředné kruhy nebo polokruhy světlehnědých až tmavohnědých acervulů, z nichž v době zralosti vytékají krátké cizry růžových až krémových konidií (obr. 1 a 2). V minulosti byla tato houba popisována na mnohých rodech rostlin jako specifický druh. Teprve Arx (1957) ve své monografii srovnal bohatou synonymiku a správně uvádí, že jde ve skutečnosti o jeden dosti mnohotvárný druh, a to *C. gloeosporioides* Penz, patřící jako imperfektní forma k askomycetu *Glomerella cingulata* (Ston.) Spauld. et v. Schrenk.

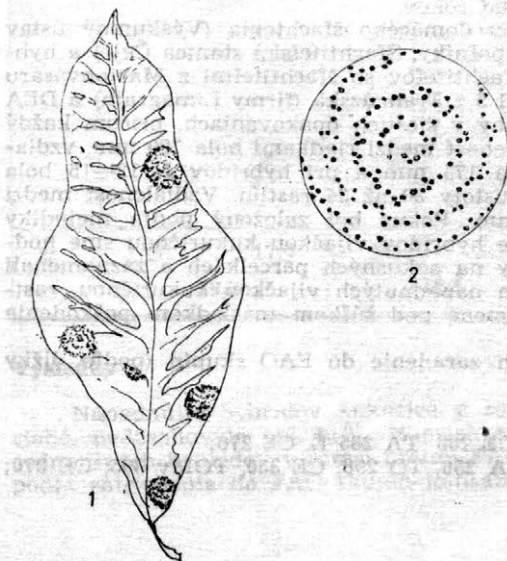
Arx (1957) vyhledal s obdivuhodnou pilí množství pramenů, podle kterých má C. g. téměř 600 synonym, což snad nemá v mykologické literatuře obdoby.

Jak uvádí Arx (1957), konidie jsou válcovité nebo poněkud kyjovité, často uprostřed nebo ke konci zúžené a na koncích zaoblené, rovné nebo mírně prohnuté, často poměrně nepravidelné, rozměrů 12–22 × 4–6 μm. Zralé vytékají z acervulů jako pomerančový nebo cihlově červený, řidčeji bílý nebo hnědavý sliz.

Rostliny, na kterých jsme tuto houbu našli, byly ve srovnatelných podmínkách teplejších skleníků a pocházely z JZD Tuřany (o. Brno) — položky č. 1–8, zbývajících položky č. 9 a 10 ze ZARESU Bratislava a č. 11 ze skleníků Rekultivace Havířov — Dolní Suchá.

1. *Anthurium andreanum* 16–18 × 3,5–4,5 μm
2. *Anthurium scherzerianum* 16–20 × 3,5–5 μm
3. *Aphelandra squarrosa* 15–17 × 3,5–4,5 μm
4. *Aucuba japonica* 18–20 × 4–5 μm
5. *Codiaeum variegatum* 10–20 × 4 μm
6. *Dracaena sanderiana* 15–16 × 4 μm
7. *Ficus elastica* 14–20 × 4–6 μm
8. *Philodendron erubescens* 13–15 × 4–5 μm
9. *Phoenix canariensis* 11–12 × 4–6 μm
10. *Rhaphidophora aurea* 11–18 × 4–6 μm
11. *Stanhopea* sp. 11–18 × 3,5–5 μm

Uvedené rozměry konidií byly zjištěny namátkovým měřením 200 jedinců.



1. List *Codiaeum variegatum* se skvrnami *Colletotrichum gloeosporioides*

2. Zvětšený detail skvrny s acervuly *Colletotrichum gloeosporioides*

Všimli sme si ve všetkých prípadoch pôvodu nekrotických skvrn, na ktorých boli aceruly, a môžeme prohlásiť, že šlo vo väčšom o primárne pôsobenie abiotických vlivů (podvýživa, popálenie, mechanické poškodenie), ktoré zrejme houbě *C. gloeosporioides* otvorilo cestu. Možno proto říci, že houba patří k dispozičním parazitům. Jinak je zajímavé, že jsme ani v jednom případě nezjistili současnou přítomnost perfektního stádia *Glomerella cingulata*.

Literatura

ARX v. J. A.: Die Arten der Gattung *Colletotrichum* Corda. Phytopathol. Z., 29, 1957, č. 4, s. 413-468.
(Zde také uvedena všechna excerpovaná literatura).

Došlo dne 10. 3. 1987

Ing. dr. Vladimír Z a c h a, CSc., Běloruská 18, 625 00 Brno
RNDr. Olga B r a s l a v s k á, CSc., Tulsá 65, 974 00 Banská Bystrica

ODOLNOST HYBRIDOV KUKURICE PROTI VIJAČKE KUKURIČNEJ, *OSTRINIA NUBILALIS* (HÜBNER)

Vijačka kukuričná, *Ostrinia nubilalis* (Hübner), sa stáva v posledných rokoch významným škodcom kukurice v južných oblastiach pestovania (na juhozápadnom a juhovýchodnom Slovensku a na južnej Morave). Jej škodlivosť je citeľná najmä na množiteľských porastoch kukurice, a to vzhľadom na očakávaný ekonomický prínos.

Priama škodlivosť vijačky kukuričnej spočíva v tom, že húsenice svojim žerom vnútri stebľa zapríčiňujú jeho lámavosť a v prípade, že rastlina je zlomená pod šúľkom, vznikajú zberové straty. Nepriama škodlivosť sa prejavuje tým, že otvory v stebli sú vstupnou bránou pre ďalšiu infekciu rôznymi patogénmi.

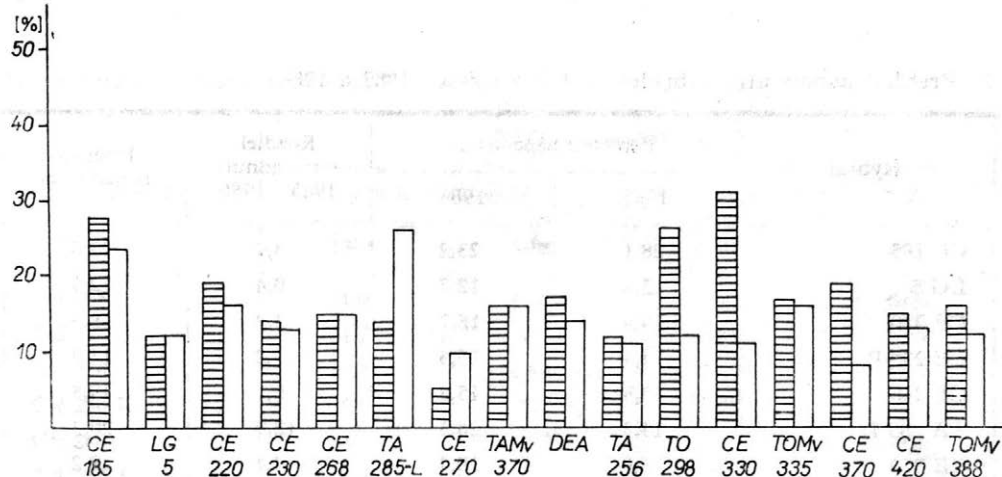
Materiál a metódy

Odolnosť rôznych hybridov kukurice sme sledovali v rokoch 1985 až 1986 na pokusnej báze Výskumného ústavu kukurice Trnava — Farský Mlyn, kde sa kukurica pestuje v monokultúre už vyše dvadsať rokov.

Do pokusu sme zaradili 14 hybridov domáceho šľachtenia (Výskumný ústav kukurice Trnava, Šľachtiteľská stanica Topoľníky, Šľachtiteľská stanica Čejč) a hybridy, ktoré vznikli v spolupráci našich šľachtiteľov so šľachtiteľmi z Martonvásáru v MLR a dva zahraničné hybridy, a to LG 5 z Francúzska (firmy Limagrain) a DEA z USA (firmy Pioneer). Pokus bol založený v šiestich opakovaníach, pričom každý hybrid bol vždy v dvoch riadkoch. Vzdialenosť medzi riadkami bola 700 mm, vzdialenosť v riadkoch hybridov č. 1—11 bola 175 mm a pri hybridoch č. 12—16 bola 200 mm. V jednom riadku bolo podľa hustoty 30 až 34 rastlín. Vzdialenosť medzi jednotlivými opakovaniami bola 2500 mm. Pokus bol založený podľa metodiky štátnych odrodových pokusov. Napadnutie hybridov vijačkou kukuričnou sme hodnotili tak, že sme prezreli všetky rastliny na pokusných parcelkách a zaznamenali sme celkový počet rastlín a počet rastlín napadnutých vijačkou kukuričnou, rastliny zlomené nad šúľkom a rastliny zlomené pod šúľkom (následkom poškodenia vijačkou kukuričnou).

Prehľad sledovaných hybridov a ich zaradenie do FAO skupín (podľa dĺžky vegetačnej doby):

FAO do 200 — CE 185, LG 5;
FAO 200—300 — CE 220, CE 230 R, CE 268, TA 285 L, CE 270;
FAO 300—400 — TAMv 310, DEA, TA 256, TO 298, CE 330, TOMv 335, CE 370;
FAO 400—500 — CE 420, TOMv 388.



1. Napadnutie hybridov kukurice vijačkou kukuričnou v roku 1985 — ▨ a 1986 — □

I. Napadnutie hybridov kukurice (v %) podľa zatriedenia do FAO skupín

	do 200		200—300		300—400		400—500	
	1985	1986	1985	1986	1985	1986	1985	1986
CE 185	28,1	23,2	CE 220	19,9	16,7	TAMv 310	16,7	16,8
LG 5	12,3	12,7	CE 230 R	14,4	13,3	DEA	17,2	14,2
			CE 268	15,8	15,8	TA 256	12,6	11,8
			TA 285 L	14,3	26,3	TO 298	26,2	12,6
			CE 270	5,9	10,4	CE 330	31,9	11,7
						TOMv 335	17,6	16,1
						CE 370	19,4	8,9
Ø	20,2	17,9		14,1	16,5		20,2	13,2
Ø		19,0		15,3				15,6
								12,9
								14,2

Výsledky

Napadnutie hybridov kukurice v rokoch 1985 a 1986 bolo na pokusnej báze slabé, nedosahovalo ani 40 %. Napriek tomu sú však jasné rozdiely v napadnutí jednotlivých hybridov v rámci určitej FAO skupiny. Rozdiely v napadnutí hybridov podľa zatriedenia do FAO skupín kolísali (tab. I) v jednotlivých rokoch, najväčšie

II. Prehľad napadnutia hybridov (v %) v rokoch 1985 a 1986

Hybrid	Percento napadnutia		Rozdiel v napadnutí 1985—1986	Priemer napadnutia
	1985	1986		
CE 185	28,1	23,2	4,9	25,6
LG 5	12,3	12,7	— 0,4	12,5
CE 220	19,9	16,7	3,2	18,3
CE 230 R	14,4	13,3	1,2	13,9
CE 268	15,8	15,8	0,1	15,8
TA 285 L	14,3	26,3	—12,0	20,3
CE 270	5,9	10,4	— 4,4	8,2
TAMv 310	16,7	16,8	— 0,2	16,8
DEA	17,2	14,2	3,0	15,7
TA 256	12,6	11,8	0,7	12,2
TO 298	26,2	12,6	13,5	19,4
CE 330	31,9	11,7	20,2	21,8
TOMv 335	17,6	16,1	1,5	16,9
CE 370	19,4	8,9	10,5	14,1
CE 420	15,1	13,0	2,1	14,1
TOMv 388	16,0	12,7	3,3	14,3

rozdiely sa prejavili v skupine FAO 300—400. Najvyššie priemerné napadnutie bolo v skupine FAO do 200 (19,0 %) a najnižšia v skupine FAO 400—500 (14,2 %).

Napadnutie hybridov kukurice vijačkou kukuričnou bolo v roku 1986 celkovo nižšie ako v roku 1985. Celkový prehľad napadnutia v percentách v rokoch 1985 a 1986 je znázornený na obr. 1 a v tab. II. Môžeme vidieť, že percento napadnutia sa v roku 1985 pohybovalo od 5,9 do 31,9 a v roku 1986 od 8,9 do 26,4. Temer rovnaké napadnutie mali štyri hybridy: LG 5 (12,3—12,7 %), CE 268 (15,8—15,8 %), TAMv 310 (16,7—16,8 %) a TA 256 (12,6—11,8 %). Veľké rozdiely boli v napadnutí hybridov TA 285 L (14,3—26,3 %), TO 298 (26,2—12,6 %), CE 330 (31,9—11,7 %) a CE 370 (19,4—8,9 %). Rozdiely v napadnutí ostatných hybridov boli nevýrazné.

Z hospodárskeho hľadiska má veľký význam zlomenie rastlín pod ťuhom, ktoré zapríčiňuje straty pri mechanizovanom zbere. Počet rastlín zlomených pod ťuhom dôsledkom poškodenia vijačkou kukuričnou je uvedený v tab. III. Percento zlomených rastlín pod ťuhom z celkového počtu rastlín v pokuse sa pohybovalo od 0,9 do 11,0 v roku 1985 a od 2,3 do 13,0 v roku 1986 a z počtu napadnutých rastlín vijačkou kukuričnou sa pohybovalo od 12,8 do 51,8 v roku 1985 a od 19,4 do 78,0 v roku 1986. V oboch prípadoch najvyššie percento zlámaných rastlín mal hybrid CE 220. Najnižšie percento polámaných rastlín mal hybrid TOMv 388.

Diskusia a záver

Výsledky, ktoré sme získali sledovaním rôznych hybridov na odolnosť proti napadnutiu vijačkou kukuričnou, považujeme zatiaľ za orientačné, pretože rozdiely v napadnutí boli nielen medzi jednotlivými hybridmi v rámci jedného sledovaného roka, ale i medzi rokmi pri tom istom hybride. Celkovo bolo napadnutie nižšie v roku 1986, čo korešponduje so závermi, ktoré udáva Vressel (1971), že poškodenie kukurice a vysoká populačná hustota vijačky kukuričnej celkom závisí od pôsobenia priaznivých kritických sezónnych faktorov. Taktiež Barbulescu (1982) hovorí o rozdieloch v napadnutí kukurice vplyvom poveternostných podmienok. Za najúčinnéjšie ochranné opatrenia môžeme považovať pestovanie odolných hybridov. Už Barry (1969) testovaním dokázal, že mnohé hybridy sú odolné proti

III. Podiel zlomených rastlín pod šúľkom

Hybrid	Percento zlomených rastlín			
	z celkového počtu		z počtu napadnutých	
	1985	1986	1985	1986
CE 185	11,0	10,0	39,2	43,2
LG 5	4,7	9,0	38,5	71,4
CE 220	10,3	13,0	51,8	78,0
CE 230 R	6,1	7,2	42,4	54,2
CE 268	6,3	6,3	39,4	40,0
TA 285 L	2,5	8,5	17,2	32,2
CE 270	0,9	4,9	15,4	47,5
TAMv 310	2,2	6,7	13,2	39,7
DEA	2,5	8,0	14,5	56,0
TA 256	1,7	4,7	13,5	39,5
TO 298	1,9	8,1	7,1	64,4
CE 330	5,6	6,0	17,6	51,4
TOMv 335	8,1	5,1	46,2	31,4
CE 370	3,6	7,0	18,8	78,6
CE 420	1,9	4,3	12,8	33,3
TOMv 388	2,1	2,3	13,2	19,4

vijačke kukuričnej. Keby sme každú zlomenú rastlinu zahrnuli do zberových strát, tak by sa straty na úrode pohybovali od 0,04 do 0,05 ton, a to nezahrňujeme do toho ďalšie faktory znižujúce úrody.

Vzhľadom na varírovanie výsledkov budeme ďalej pokračovať v sledovaní odolnosti hybridov proti napadnutiu vijačkou kukuričnou. Získané výsledky pomôžu pri rajonizovaní jednotlivých hybridov v rôznych oblastiach pestovania kukurice podľa výskytu vijačky kukuričnej.

Literatúra

- BARBULESCU, A.: Influenta unor factori de mediu asupra populației sfredelitorului porombului *Ostrinia nubilalis* Hb. In: An. Inst. Cerc. Cer. Pl. Teh. Fund., 49, 1982, s. 235-243.
- BARRY, B. D.: European corn borer and corn leaf aphid resistance in corn hybrids. Ohio agric. Res. Develop. Cent. Res. cir., 1969, č. 174, s. 8.
- VRESSEL, H. B.: A comparison of European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hbn., moth flight to light traps in southwestern Ontario and the relationship to borer infestation. In: Proc. Entomol. Soc. Ont. 1971, č. 102, s. 63-70.

Došlo dňa 19. 1. 1987

Ing. Johana Longauerová, CSc., Výskumný ústav kukurice, 917 52 Trnava

KONZERVACE ROSTLINNÝCH VIRŮ A ČESKOSLOVENSKÁ BANKA ROSTLINNÝCH VIRŮ A PROTILÁTEK

Při experimentální práci s rostlinnými viry vyvstává problém jejich uchování v nativním stavu po kratší nebo delší časové období. Často se neobejdeme bez mnohaletého udržování izolátů a kmenů virů. S rozvojem vědní disciplíny rostlinné virologie a realizací praktických opatření na úseku ozdravení rostlin, získávání viruprostých rostlin, osiv a sádí a šlechtění kulturních rostlin na rezistenci vůči virům je potřeba dlouhodobého uchovávání standardních izolátů a kmenů virů stále naléhavější. V současné době potřebujeme urychleně realizovat zařízení pro dlouhodobé uchování rostlinných virů a jejich kmenů v ČSSR. Ministerstvo zemědělství a výživy ČSR pověřilo Výzkumný ústav rostlinné výroby Praha-Ruzyně vybudováním banky rostlinných virů a protilátek. Tato banka má ve VÚRV navazovat na výzkumné pracoviště, oddělení rostlinné virologie, k jehož hlavním úkolům patří výzkum v ČSSR nových virových chorob, jejich rozšíření a škodlivosti, výzkum metod diagnózy virů a metod přípravy protilátek, vypracování postupů testování rostlin protilátkami pro získávání viruprostých a rezistentních rostlin. Banka rostlinných virů a protilátek bude sloužit též ústavům základního výzkumu, specializovaným výzkumným zemědělským ústavům, šlechtitelským stanicím, kontrolním zemědělským stanicím, diagnostickým střediskům, které vznikají i při některých specializovaných JZD, a výrobě antisér a protilátek při VŠÚZ Olomouc, která právě zahajuje svoji činnost a výrobním programem bude pokrývat potřeby testování rostlin v ČSSR.

Rostlinné viry jsou úzce vázány na hostitele, jejich buňky, a není možné je uchovávat na umělých médiích. V současné době je ve světě známo více než 400 odlišných virů infikujících rostliny. V Československu jich bylo zjištěno více než 100, z toho nejméně 65 je hospodářsky škodlivých. Rostlinné viry jsou podle řady kritérií zatím rozřazeny do 24 skupin. Z rostlin na rostlinu jsou přenášeny různými přenašeči. Část z nich je možné přenášet mechanickou inokulací, některé jsou inaktivovány teplotou kolem 50 °C, jiné zničí teprve teplota blízká se bodu varu (např. virus mozaiky tabáku). Z toho vyplývají možnosti konzervace rostlinných virů.

Klasický způsob používaný k udržování rostlinných virů jejich neustálým pasážováním na hostitelských rostlinách klade značné nároky na pěstování rostlin a na skleníkové prostory. Tímto způsobem také nelze dobře zajistit standardizaci patogenu. Proto se hledají možnosti, které by dokázaly udržet biologickou aktivitu virů, zejména jejich infekčnost a sérologickou aktivitu, po dlouhé období.

První práce o konzervování virů pojednávají o jejich uchovávání ve vysušených listech (Mc Kinney et al., 1965). Ke konzervaci X viru bramboru byl použit glycerín (Bercks, 1950). Ke konzervaci viru žloutenky řepy bylo s úspěchem použito roztoku sacharózy. Infekčnost viru mozaiky řepy byla uchována po delší dobu v lyofilizovaném preparátu (Chod, Polák, 1969). Hollings a Stone (1969) purifikovali 74 rostlinných virů, které konzervovali lyofilizací a přezkoušeli jejich biologickou aktivitu. Infekčnost po jednom roce zjistili u 38 virů, u 19 dokonce ještě po deseti letech. Dále se rostlinné viry konzervují nízkou teplotou. V listech zmrazených při teplotě pod -25 °C byla prokázána infekčnost u patnácti virů po čtyřech letech skladování, u 19 virů dokonce ještě po deseti letech (Nikolić, Stakić, 1969). V poslední době se zjistilo, že při mrazení virových preparátů v listech se může u některých virů porušit integrita částic (Kurstak, 1981; Mazur, 1970). Jako kryoprotekční médium se osvědčil monoetanolaminový pufr.

V naší laboratoři jsme se v 70. letech zaměřili na konzervaci virů lyofilizací a v prostředí tekutého dusíku (Chod, Polák, 1975). Pracovali jsme s preparáty X a Y viru bramboru, viru mozaiky tabáku, viru obecné mozaiky fazoly, viru mozaiky salátu a viru žluté mozaiky vodnice. Z pokusu vyplynulo, že obě metody, jak skladování lyofilizovaných antigenů předem ošetřených glycerínem, sacharózou, laktózou nebo Dextranem T-10, tak udržování virů při nízké teplotě nad tekutým dusíkem jsou vhodné. Konzervace virů lyofilizací preparátů je z ekonomického

a technického hlediska výhodnější. Po lyofilizaci je možné virové antigeny dlouhodobě uchovávat v chladu, nebo dokonce při pokojové teplotě bez podstatného vlivu na infekčnost a sérologickou aktivitu.

V Holandsku bylo nejlepších výsledků dosaženo uchováním virů ve vysušených listech ve zkumavkách s chloridem vápenatým, uskladněných při teplotě -20°C nebo v tekutém dusíku při -196°C (Bos, 1969, 1977; Bos, Bennett, 1979). V současné době je konzervace virových preparátů vysušením nad bezvodým chloridem vápenatým pokládána za nejvýhodnější. Proto jsme se zaměřili na tuto metodu. Nyní uchováváme ve vysušených listech indikátorových rostlin, především různých druhů tabáku, merlíku, ale i jednoděložných rostlin (viry obilnin), více než 20 hospodářsky významných virů: M, S, X a Y virus bramboru, virus mozaiky salátu, virus šarky švestky, virus mozaiky vodního melounu, virus mozaiky okurky, virus aspermie rajčete, virus mozaiky huseníku, virus latentní kroužkovitosti jahodníku, virus keříčkovité zakrslosti rajčete, virus nekrózy tabáku, virus žluté mozaiky vodnice, virus vadnutí bobu, virus svinutky třešně, virus skvrnitosti kafiátu, virus čárkovité mozaiky ječmene, virus čárkovité mozaiky pšenice, virus zakrsle mozaiky kukuřice, virus mozaiky jílku a virus mozaiky sverepu. Jedná se vesměs o viry mechanicky přenosné. S dlouhodobým uchováním virů s vysokým bodem termální inaktivace, jako např. X virus bramboru, virus skvrnitosti kafiátu, virus žluté mozaiky vodnice nebo virus keříčkovité zakrslosti rajčete, nejsou problémy, preparáty jsou infekční po řadu let. Podařilo se nám však několik let bez pasáže na indikátorové rostliny uchovat i viry s nižším bodem termální inaktivace, např. Y virus bramboru konzervovaný v roce 1981 je infekční po pěti letech skladování, virus aspermie rajčete po třech letech skladování.

Uvedený seznam konzervovaných virů by měl být prvním základem k vybudování čs. banky rostlinných virů. Předpokládáme, že po jejím uvedení do provozu by postupně obsahovala asi sto různých rostlinných virů. U některých virů bude třeba uchovávat i několik kmenů, především z hlediska potřeby využití odlišných patotypů patogena ve šlechtění rostlin na rezistenci. Čs. banka rostlinných virů by tak měla obsahovat asi 200 uchovávaných kultur. Kromě konzervace na chloridu vápenatém předpokládáme i uchovávání některých virů v lyofilizovaných preparátech a periodické pasážování na indikátorových rostlinách v jedno nebo víceletém cyklu. Problémem zůstává dlouhodobé uchování především virů mechanicky nepřenosných, zvláště ekonomicky významných Luteovirů, ale i např. Closterovirů. Při nepřetržitém pasážování na rostlinách je kromě pracovní náročnosti velkým problémem i možnost kontaminace jinými viry z vnějšího prostředí. Proto bychom chtěli ověřit možnost konzervace těchto virů meristémovými kulturami.

Ve speciálních případech banka využije k uchovávání některých virů externí možnosti, např. některá pracoviště základního výzkumu nebo specializovaných zemědělských výzkumných ústavů. Dále předpokládáme mezinárodní spolupráci a napojení banky na obdobná zahraniční pracoviště, především na banku patogenů RVHP ve Fytopatologickém ústavu v Aschersleбену (NDR).

V předběžném záměru na vybudování československé banky rostlinných virů a protilátek je nutné vybudovat chladnou místnost pro skladování konzervovaných virů a protilátek, laboratoř pro přenosy virů na rostliny, pracovnu, místnost na umístění čtyř klimatizovaných boxů a klimatizovaný kójevý skleník pro pěstování virů na rostlinách. Z přístrojových investic k nutnému vybavení jsou nezbytné velkoobjemové lednice a mrazicí pulty, klimatizované boxy, dvě chlazené středně obrátkové odstředivky a elektrický lis na získání šťávy z listů rostlin. Banku rostlinných virů a protilátek by měli obsluhovat tři pracovníci. S ohledem na nárokování okamžité potřeby využívání banky rostlinných virů výrobnou antisér a protilátek při VŠÚZ Olomouc by investice měla být realizována v co nejkratší době.

Literatura

- BERCKS, R.: Über die Konservierung von Kartoffel X virus durch glycerin. Phytopath. Z., 16, 1969, s. 508-510.
BOS, L.: Experience with a collection of plant viruses in leaf material dried and stored over calcium chloride and a discussion of literature on virus preservation. Meded. Rijksfac. Landb.-Wet. Gent, XXXIV, 1969, s. 875-887.
BOS, L.: Persistence of infectivity of three viruses in plant material dried over CaCl_2 and stored under different conditions. Netherl. J. Pl. Path., 83, 1977, s. 217-220.

- BOS, L. — BENETT, M. P.: Direct electron microscopy and serology with plant viruses in leaf material dried and stored over calcium chloride. *Netherl. J. Pl. Path.*, **85**, 1979, s. 241-251.
- HOLLINGS, M. — STONE, O. M.: The long-term survival of some plant viruses preserved by lyophilization. *Ann. appl. Biol.*, **65**, 1969, s. 411-418.
- CHOD, J. — POLÁK, J.: Purification and conservation of infective sugar-beet mosaic virus. *Biol. Plant. (Praha)*, **11**, 1969, s. 324-326.
- CHOD, J. — POLÁK, J.: Preservation of the antigens of some plant viruses by means of lyophilization and very low temperatures. In: *Věd. Pr. Výzk. Úst. rostl. Vyr.*, 1975, č. 20, s. 151-159.
- KURSTAK, E.: Handbook of plant virus infection. Comparative diagnosis. Amsterdam — New York — Oxford, Elsevier, North Holland Biomedical Press. 1981, s. 541-564.
- Mc KINNEY, H. H. — SILBER, G. — GRELEY, L. W.: Longevity of some plant viruses stored in chemically dehydrate tissues. *Phytopathology*, **55**, 1965, s. 1044.
- MAZUR, P.: Cryobiology: the freezing of biological systems. *Science*, **168**, 1970, s. 939-949.
- NIKOLIĆ, V. — STAKIĆ, D.: Prolog poznavanju postojanosti nekih fitopatogenih virusa u sasušenom lisnom tkivu. *Savrem. Poljopriv.*, **10**, 1969, s. 1021-1023.

Ing. Jaroslav Polák, CSc., ing. Jiří Chod, DrSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, 161 06 Praha 6 - Ruzyně

ŽIVOTNÍ JUBILEA

Ing. dr. JAROSLAV BENÁDA, CSc., SEDESÁTNÍKEM

V československé i světové fytopatologii je jubilant znám jako přední fytopatolog a odborník v ochraně rostlin. Především však na úseku obilnin je neformální autoritou odbornou i lidskou s rozsáhlými znalostmi o ochraně proti chorobám, škůdcům a plevelům.

Narodil se 13. 3. 1928 v Mikulčicích jako syn rolníka. Studoval na gymnáziu a po jeho úspěšném zakončení pokračoval ve studiu na přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze a na Vysoké škole zemědělské v Brně. Od roku 1949 se specializoval na fytopatologii a během studia pracoval v Ústavu hospodářské fytopatologie u prof. E. Baudyše. V roce 1951 nastoupil do Výzkumného ústavu obilnářského v Kroměříži jako vedoucí pracovník mykologie na oddělení ochrany rostlin.

V letech 1952–1955 byl řádným aspirantem na VSZ v Brně u prof. Baudyše pro odbor fytopatologie. V roce 1952 na základě disertační práce o *Helminthosporium turcicum* na kukuřici, mu byla udělena hodnost doktora technických věd. V roce 1955 předložil aspirantskou disertační práci o působení fungicidů na některé fytopatogenní organismy obilnin a po obhajobě v roce 1956 mu byla udělena hodnost kandidáta zemědělských věd. Od roku 1955 byl odborným asistentem na Ústavu hospodářské fytopatologie VSZ v Brně.

Od začátku své vědecko-výzkumné práce, již na Vysoké škole zemědělské jako posluchač, se dr. Benáda projevil jako specialista fytopatolog-mykolog. Od roku 1953 se podílel na vydávání rozsáhlého čtyřdílného kompendia *Zemědělská fytopatologie*, jehož byl vědecký redaktor i autor části o chorobách obilnin. Do práce na tomto kompendiu se podařilo zapojit většinu (kolem 60) čs. fytopatologů a mykologů. Tím byla poprvé vytvořena základní příručka fytopatologie v Československu. Je to jedna z nejobsažnějších a nejúplnějších knih v literatuře tohoto typu.

Knihy uspokojila především požadavky praxe, tj. mít k dispozici moderní a široký přehled chorob pěstovaných rostlin. Ve výzkumu přispěla k podstatnému zvýšení úrovně řešení úkolů z fytopatologie a ke zvýšení úrovně výzkumníků. Na základě této příručky bylo možné sepsat stručné vysokoškolské učebnice i učebnice pro střední školy.

Od roku 1960 se podílel jako vědecký redaktor na pokračování sbírky *Atlasů chorob a škůdců kulturních rostlin* (obilniny, olejnin, luskoviny, řepa). Do dílu o obilninách zpracoval podstatnou část chorob. Tato sbírka vycházela s trojjazyčným textem a byla převzata řadou států RVHP a byla exportována do řady socialistických i nesocialistických států.

V roce 1960 začal pracovat opět ve Výzkumném ústavu obilnářském v Kroměříži na problematice ochrany obilnin jako vědecký pracovník a od roku 1962 jako samostatný vědecký pracovník.

Dr. J. Benáda, CSc., dosud publikoval přes 120 původních vědeckých prací a přes 120 prací populárně vědeckých a prací pro širokou zemědělskou veřejnost. Kromě toho je autorem rozsáhlých částí řady knih a kompendií [*Zemědělská fyto-*



patologie (1952—1962), Atlas chorob a škůdců obilnin (1967)], zpracoval četná hesla o chorobách rostlin pro Zemědělskou encyklopedii (od roku 1966), dále spolupracoval na knihách Skládá a kol.: Sladovnický ječmen (1967), Foltýn a kol.: Pšenice (1970), Lekeš a kol.: Pěstujeme obilniny v ČSR (1973), byl vědeckým redaktorem některých středoškolských učebnic ochrany rostlin, monografií jako je Frič, A. Haspelová-Horvátovičová: Beitrag zur Pathogenese mehltaubefallener Gerste.... (Bratislava 1964) a jiných publikací a odborného filmu o chorobách obilnin.

Obhájil 13 závěrečných zpráv z úseku ochrany obilnin. Kromě toho vytvořil již v roce 1975 novou koncepci ochrany obilnin, včetně chemické ochrany, která se začíná realizovat až v posledním období. Je autorem zlepšovacích návrhů na úseku zemědělského pokusnictví a problematiky reziduí pesticidů. Bylo mu přiznáno autorství jednoho vynálezu.

Jeho odborná práce je rovnoměrně rozdělena na problematiku základního výzkumu (např. podstata polní odolnosti rostlin, význam elektrických potenciálů v rostlině, otázky fyto toxicity a fyziologie působení pesticidů) a na problematiku aplikovaného výzkumu (technologie aplikace pesticidů v obilninách).

Vypracoval metodiku měření elektrických redoxních potenciálů v rostlině. Řadu korelací experimentální morfologie rostlin vysvětlil na základě rozložení elektrických potenciálů v pokusných rostlinách jako je hrách, len, slunečnice atd., stejně jako odnožování obilnin, růst jejich kořenů atd.

Na základě změn pH v hostitelských pletivech vysvětlil změnu různých typů rozmnožovacích orgánů hub, např. tvorbu uredií rzi v kyselých pletivech, telíí při pH blízkém se 7, podobně změnu tvorby konidií padlí na perithecia u různých druhů padlí a změnu symptomů chorob na základě změny pH hostitelských pletiv.

Vypracoval teorii podstaty odolnosti rostlin k chorobám, jejímž základem je možnost získávání energie parazity v hostitelském pletivu.

Ve VŠÚO se zúčastnil aktivně na vypracování různých koncepčních materiálů rozvoje obilnářství v ČSSR. Byl členem obilnářské komise při ČSAZ, komise ochrany rostlin při KZS Jihomoravského kraje, obilnářské komise KRB Jihlava, působí jako specialista poradenskou činností v řadě dalších okresů. Je dlouholetým členem redakční rady časopisu Ochrana rostlin a mezinárodního časopisu Plant Pathology (Anglie).

Během své práce na Vysoké škole zemědělské v Brně a pak také na nyníjším pracovišti vychoval řadu dobrých odborníků v ochraně obilnin a jiných plodin, vedl četné diplomové práce posluchačů vysokých škol zemědělských a odborně vedl i řadu aspirantských prací. Práce s. Benady, CSc., je kladně hodnocena jak v kruzích pracovníků základního výzkumu, tak praktiků.

Dr. Benada, CSc., přichází do dalšího období v plné duševní síle, s rozvíjenými tvůrčími přístupy k řešení problémů ochrany na úseku obilnin. Jménem odborné fytopatologické veřejnosti, současných i minulých spolupracovníků mu přejeme do dalších let hodně zdraví a radosti z originálních výsledků jeho experimentální práce.

Ing. Marie Váňová, CSc.

Ваньова М., Бенада Я.: Действенность фунгицидов против септориозу сорняков [<i>Septoria nodorum</i> (Berk.) Berk.] и болезням листьев у озимой пшеницы . . .	26
Бриллова Д.: Популяция церкоспороза свеклы (<i>Cercospora beticola</i> Sacc.) в Словакии . . .	37
Грубый Р., Чача З.: Проверка метода кратковременного прогноза картофельного гриба [<i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) de Bary] . . .	45
Потошек Я., Брож Й.: Новая система тестирования устойчивости картофеля к раку картофеля (<i>Synchytrium endobioticum</i>) и картофельной нематоды (<i>Globodera rostochiensis</i>) . . .	56
Бурыйшкова Л.: Влияние остаточных количеств выбранных гербицидов на последующие культуры . . .	69

CONTENTS

Polák Z.: Other Spontaneous Hosts of the Tobacco Rattle Virus . . .	4
Polák Z., Procházková Z.: The Elder Carlavirus, Cucumber Mosaic Virus, and Arabis Mosaic Virus in the Elder, <i>Sambucus nigra</i> L. . .	8
Polák J., Žák P., Jokeš M.: Potato Leafroll Virus: its Purification, Preparation of Specific Antibodies and Diagnosis by Antibodies Conjugated with Horse-Radish Peroxidase . . .	18
Váňová M., Benada J.: The Effectiveness of Fungicides in the Control of Glume Blotch [<i>Septoria nodorum</i> (Berk.) Berk.] and Leaf Diseases of Winter Wheat . . .	27
Brillová D.: Population of the <i>Cercospora beticola</i> Sacc. in Slovakia . .	38
Hrubý R., Čača Z.: Contribution to the Forecast Attestation of Potato Late Blight . . .	45
Potoček J., Brož J.: A New System of Testing the Resistance of Potatoes to Potato Wart (<i>Synchytrium endobioticum</i>) and Potato Root Eelworm (<i>Globodera rostochiensis</i>) . . .	56
Buryšková L.: The Influence of Herbicide Residues in the Soil on Subsequent Crops . . .	70

INHALT

Polák Z.: Weitere spontane Wirte des Virus der Mauchekrankheit des Tabaks . . .	4
Polák Z., Procházková Z.: Carlavirus des Holunders, Virus des Gurkenmosaiks und Virus des Arabis-Mosaiks in Holunder, <i>Sambucus nigra</i> L. . .	8
Polák J., Žák P., Jokeš M.: Viruspurifikation, Zubereitung spezifischer Antikörper und Diagnose des Virus der Blattrollkrankheit der Kartoffel mittels Meerrettich-Peroxidase konjugierter Antikörper . . . (E)	18
Váňová M., Benada J.: Wirksamkeit von Fungiziden gegen <i>Septoria nodorum</i> -Blattfleckenkrankheit und andere Blattkrankheiten von Winterweizen . .	27
Brillová D.: Populationen der <i>Cercospora beticola</i> Sacc. in der Slowakei . .	38
Hrubý R., Čača Z.: Beitrag zu der Methode einer kurzfristigen Prognose für Krautfäule der Kartoffel [<i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) de Bary] . . .	45
Potoček J., Brož J.: Neues System der Resistenzprüfung von Kartoffeln gegen Kartoffelkrebs (<i>Synchytrium endobioticum</i>) und Kartoffelnematoden (<i>Globodera rostochiensis</i>) . . .	56
Buryšková L.: Einfluß der Residuen von ausgewählten Herbiziden im Boden auf nachfolgende Kulturen . . .	70

Rukopis odevzdán k tisku 10. 11. 1987 — Podespáno k tisku 15. 1. 1988

Vědecký časopis Sborník ÚVTIZ - OCHRANA ROSTLIN • Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází čtyřikrát ročně • Redaktorka RNDr. Marcela Braunová • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541 • Vytiskl MÍR, Novinářské závody, n. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2 • © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1988

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, závod 01 — AOT, Kafkova 19, 160 00 Praha 6; PNS-ÚED Praha, závod 02, Obránců míru 2, 656 07 Brno; PNS-ÚED Praha, závod 03, Kubánská 1539, 708 72 Ostrava-Poruba. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice a dovoz tisku Praha, závod 01, administrace vývozu tisku, Kafkova 19, 160 00 Praha 6.