

VĚDECKÝ
ČASOPIS

o + VIII-24



OCHRANA ROSTLIN



2

ROČNÍK 28 (LXV)
PRAHA 1992
ISSN 0036-5394

AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD ČSFR
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Řídí redakční rada: Ing. Václav Kůdela, DrSc. (předseda), ing. Jozef Huszár, DrSc. (místopředseda), ing. Petr Ackermann, CSc., ing. Pavel Bartoš, DrSc., doc. ing. Ján Danko, CSc., RNDr. Bruno Gábel, CSc., prof. ing. Václav Kohout, DrSc., ing. Aleš Lebeda, CSc., ing. Cyprián Paulech, CSc., ing. Jaroslav Polák, CSc., ing. Vlastimil Rasocha, CSc., ing. Tibor Roháčik, CSc., ing. Vladimír Řehák, doc. RNDr. Josef Šedivý, DrSc., ing. Prokop Smirous, CSc., prof. ing. Vladimír Táborský, CSc., ing. Marie Váňová, CSc.

Vedoucí redaktorka: RNDr. Marcela Braunová

OBSAH

S m r č k a L., B a b ů r e k I.: Přenos směšné infekce vyvolané virem mozaiky huseníku, virem černé kroužkovitosti rajčete a virem mozaiky okurky z listů přirozeně ochuravělých rostlin maliníku. <i>Rubus idaeus</i> L., na testovací rostliny	81
S l o v á k M.: Vhodnost <i>Exetastes cinctipes</i> Retzius a <i>Microplitis mediator</i> Haliday pro masový chov proti more kapustovej	91
J u r í k M., Z á h o r o v á K.: Separácia a prenos dvoch vírusov bôbovitých rastlín voškami pri zmiešaných infekciách	95
P o l á k J., J e v t u š e n k o O. A.: Stanovení viru západní žloutenky řepy pomocí ELISA s použitím protilátek konjugovaných anorganickou pyrofosfatAasou	101
V o ž e n í l k o v á B.: Účinnost fungicidů na <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib) de Bary a <i>Trichoderma</i> T7 <i>in vitro</i>	109
Š u b í k o v á V., B o j ň a n s k ý V., B a u m g a r t n e r o v á H.: Výskyt virusu žltej nekrotické žilkovitosti řepy na Slovensku	115
M o l n á r J.: Obaľovač broskyňový (<i>Cydia molesta</i> Busck) - letová aktivita, teplotne-fenologický model vývoja	123
L i š k a M.: Možnosti ochrany pšenice ozimnej proti mazľavke trpasličej	135

KRÁTKÁ SDĚLENÍ

K o k o š k o v á B.: Nález baktérií <i>Erwinia rhapontici</i> na hyacintu v Československu	146
---	-----

AKTUALITY

D i r l b e k o v á O., J e d l i č k a M., D i r l b e k J.: Metodika zjišťování biologické účinnosti mykoinsekticidu Boverol při pokusech s plošnou aplikací proti mandelince bramborové (<i>Leptinotarsa decemlineata</i> Say)	149
S t a r k b a u e r o v á Z., Š r o b á r o v á A.: Molekulárne aspekty patogenity <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	154

INFORMACE

J i r á t k o J.: Bude náš časopis sledován v Current Contents ?	159
--	-----

ŽIVOTNÍ JUBILEA

B o j ň a n s k ý V.: Životné jubileum Ing. Vierky Mokrej, CSc.	121
---	-----

RECENZE

C h o d J.: M. Girard et al. - Virologie Moléculaire	108
C h o d J. R. Hampton, E. Ball, S. de Boer (Eds) - Serological methods for detection and identification of viral and bacterial plant pathogens	134

THE TRANSMISSION OF A MIXTURE INFECTION CAUSED BY ARABIC MOSAIC VIRUS, TOMATO BLACK RING VIRUS AND CUCUMBER MOSAIC VIRUS FROM LEAVES OF SPONTANEOUSLY INFECTED RASPBERRY (*RUBUS IDAEUS* L.) PLANTS TO ASSAY PLANTS

Luboš SMRČKA and Ivan BABŮREK¹

*Institute of Experimental Botany of the Czechoslovak Academy of Sciences,
Na Karlovce 1a, 160 00 Praha 6;*

¹*Vltavská 17, 150 00 Praha 5, Czechoslovakia*

Arabic mosaic virus (AMV), tomato black ring virus (TBRV), and cucumber mosaic virus (CMV) were detected by means of ELISA in a spontaneously infected raspberry plant. AMV and CMV contents in infected leaf samples were 7.53 µg and 4.14 µg, respectively. To transmit the viruses from the infected plant to assay plants, raspberry leaf samples were homogenized either with 0.02M phosphate buffer containing 2 % (w/v) of nicotine (mixture 1), or with phosphate buffer containing 2 % of polyvinylpyrrolidone (mixture 2), or with 0.1 Tris-HCl buffer containing 2 % of nicotine (mixture 4), or with distilled water containing 1 % of celite (mixture 3), or with 2 % aqueous nicotine solution containing 0.5 % of Al₂O₃ (mixture 5). To enable a comparison of the effects of these homogenization mixtures and of virus concentrations on the transmission of the AMV, TBRV, and CMV mixture infection to selected assay plants, the parameter Z was determined: $Z = (A \cdot B \cdot C) / (A \cdot B \cdot C)$. The efficacy of each homogenization mixture was then characterized as the sum of the parameter Z ($\sum z$). In these terms, the highest efficacy was recorded in case of the mixture (4) ($\sum z = 0.638$), with the mixture (1) reaching 35.9 %, mixture (2) 14.4 %, (3) 7.2 %, and (5) 71.4 % of the efficacy recorded with the mixture (4).

Arabic mosaic virus; tomato black ring virus; cucumber mosaic virus; *Rubus idaeus* L.; transmission

Arabic mosaic virus (AMV) and tomato black ring virus (TBRV) belong to the group of nepoviruses, cucumber mosaic virus belongs to cucumoviruses. These viruses have a broad range of hosts also including raspberry (*Rubus idaeus* L.) (Schmeller, Wolf, 1977). The transmission of these viruses to assay plants by means of mechanical inoculation using inoculum prepared from spontaneously infected raspberry plants can often be unsuccessful. The causes of such failures can be sought in low virus concentration in the homogenate employed for virus transmission, e. g. Converse (1978) reported that the transmission of tomato ring virus (which also belongs to the

NEPO group) was successful only in those cases in which the inoculum contained at least 1.3 μg of the virus per ml, but also in an inadequate method of inoculum preparation.

The aim of our study was to determine the concentration of the viruses in raspberry leaves and to compare the effects of various homogenization media on the transmission of AMV, TBRV, and CMV mixture infection from spontaneously infected raspberry plants to selected assay plants.

MATERIAL and METHODS

Infectious plant material used in mechanical transmissions

Leaves detached from a raspberry runner obtained from the Research and Breeding Institute of Fruit-Trees at Holovousy (designated 153 + OK ZEVA), grown in a controlled environment cabinet Heraeus-Vötsch at 18 to 22 °C, illumination of 10,000 lux, 10 h day, and 80 % air humidity, were used as the source of the infection. The presence AMV, TBRV, and CMV in the levels of runner was detected by means of the immunoenzymatic assay.

AMV, TBRV, and CMV identification

AMV presence was demonstrated using DAS ELISA with IgG conjugated with horseradish peroxidase (P o l á k , K ř í s t e k , 1986), TBRV and CMV were detected by means of PAS ELISA according to E d w a r d s and C o o p e r (1985), as modified by Ž á k (1987) for the utilization of protein A conjugated with peroxidase.

Raspberry leaf samples were homogenized with 4 ml of extraction buffer per g of leaf tissues. PBS buffer, pH 7.2, containing 0.05 % of Tween 20 and 0.5 % of BSA was used for DAS ELISA; the same buffer but without BSA was used for PAS ELISA. The homogenate was squeezed through nylon cloth and the sap thus obtained was further diluted in ratios of 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1: 128, 1:256, 1:512, and 1:1024. Diluted sap samples were applied in two replicates. Sap prepared from leaves of healthy raspberry plants obtained from the Breeding Station at Velké Losiny, designated NŠ LS 5/1, grown *in vitro*, served as the healthy control. Buffer solutions (carbonate, conjugate, and substrate), IgG, conjugate, protein A and antisera against TBRV and CMV dilutions, and incubation times correspondent to those reported by the above authors.

To construct the AMV concentration calibration curve, the same AMV isolate was employed which had been used to prepare the antiserum, that is a Hungarian isolate from *Forsythia suspensa* Vahl. The virus was purified according to F i l i g a r o v á (1982). AMV concentration was determined according to

absorbance readings at 260 nm and a known AMV absorption coefficient (Waterworth, 1975). AMV purificate with a known concentration was used to prepare a dilution series which was applied onto the same ELISA plate together with the samples to be examined. Dynatech plates were used in all assays.

To construct the CMV calibration curve, the isolate CMV-Ke described by Brčák (1962) was used. CMV concentration was determined according to absorbance readings at 260 nm and a known CMV absorption coefficient (Habili, Franckí, 1974).

Calibration curves of the dependence of virus contents on absorbance were evaluated by interpolating a polynomial of the third order (which proved best for the characterization of sigmoid dependence of AMV concentration on absorbance) using the method of the smallest squares. These calibration curves were then used to determine AMV or CMV contents in examined samples according to respective absorbance readings. The polynomial employed had following shape: $y = a + bx + cx^2 + dx^3$, in which y was the absorbance read at 490 nm and the value x was expressed as a natural logarithm of AMV or CMV concentration, respectively (Šíma et al., 1985). The data were processed using an IBM PC computer and an ÚSOL program called „Quantitative Imunochemical Analytical Methods“.

Assay plants employed in the experiments and inoculum preparation

To study virus transmission, four assay plant species were employed, i. e. *Petunia hybrida* Hort. cv. Lavina, *Chenopodium amaranticolor* Coste et Reyn., *Cucumis sativus* L. cv. Unikát, and *Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun. The homogenization mixtures used were as follows:

1. Phosphate buffer, pH 7.2, 0.02M, containing 2 % (w/v) of nicotine.
2. Phosphate buffer, pH 7.2, 0.02M, containing 2 % (w/v) of polyvinylpyrrolidone.
3. Distilled water containing 1 % (w/v) of celite.
4. Tris-HCl buffer, pH 8.0, 0.1M, containing 2 % (w/v) of nicotine.
5. Aqueous solution (2%, w/v) of nicotine containing 0.5 % (w/v) of Al₂O₃ and 1 % (w/v) of celite.

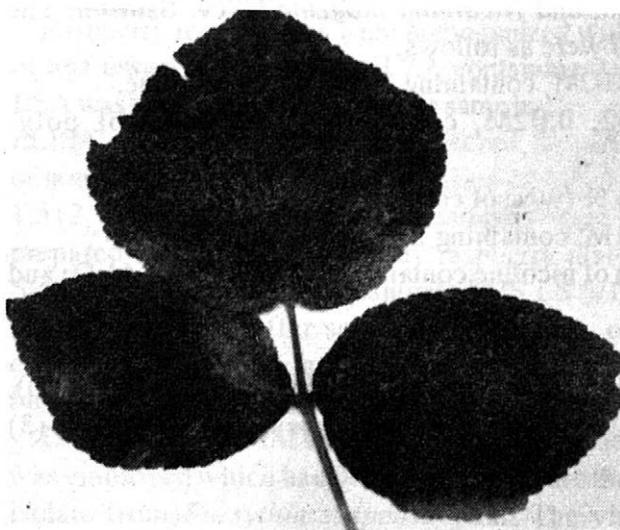
Leaf blade surface was mildly injured with carborundum powder (600 mesh), with the exception of those leaves to which inoculum prepared according to (3) and (5) was applied.

Leaves of assay plants were inoculated either with undiluted inoculum or with inoculum diluted at ratios of 1:2, 1:4, and 1:8, respectively. Each type of inoculation was tested on ten assay plants of each of the four species.

The presence of the above phytoviruses was screened by means of the above immunoenzymatic assays on day 12 after inoculation. Sample absorbance was determined using a MR 590 photometer at 490 nm. Positive reaction threshold was determined according to the absorbance of the negative control, using the formula $\bar{x} + 3\bar{s}$, in which \bar{x} represents arithmetical mean and \bar{s} is standard error (S u t u l a et al., 1986).

RESULTS and DISCUSSION

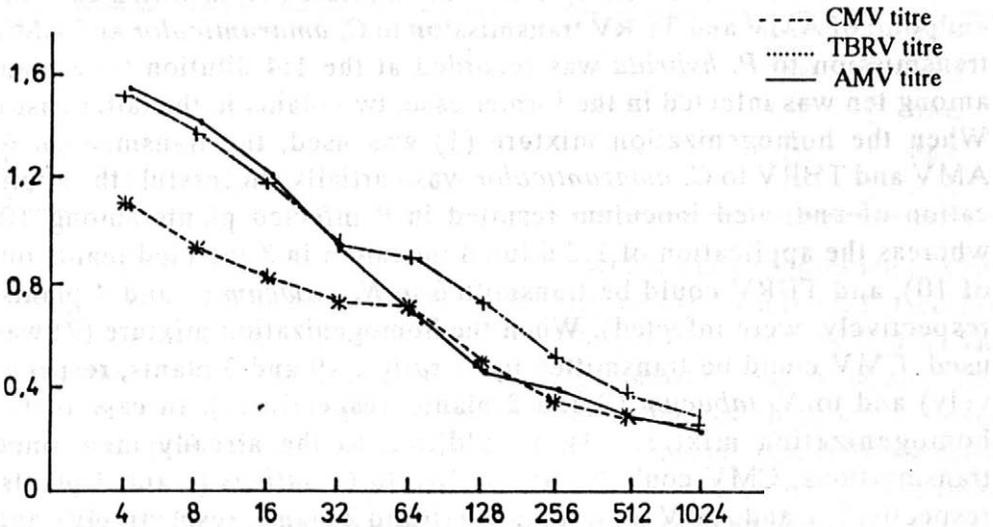
More than 20 viruses have already been described in *Rubus idaeus*, and besides that there also exist dates on mixture infections by two or more viruses. For example L i s t e r (1964) described a mixture infection caused by AMV and by strawberry latent ringspot virus, J o n e s (1980) reported raspberry plant infection by a mixture of raspberry bushy dwarf virus and black raspberry necrosis virus. In our experiments, raspberry leaves infected with three viruses were employed - AMV, TBRV, and CMV. The leaves showed mosaic symptoms with yellow spots accompanied with mild leaf blade deformation (Fig. 1). These symptoms are consistent with those caused on raspberry leaves by AMV (H a r r i s o n , 1958b; D a l e , B r o w n , 1973; C o t t e n et al., 1978), TBRV (K e g l e r , K l e i n h e m p e l , 1977) and CMV (H a r r i s o n , 1958a). The results obtained in immunoenzymatic assays showed that



1. Leaf of raspberry (*R. idaeus* L.) infected AMV, TBRV, and CMV with symptoms of mosaic with yellow spots and deformation

AMV content in leaves sampled on this runner was $7.53 \mu\text{g}$ and CMV content $4.14 \mu\text{g}$. TBRV content could not be determined, because the absorption coefficient of this virus is not known. TBRV titre in sap of leaves sampled on the infected runner is presented in Fig. 2 together with AMV and CMV titres.

As far as the suitability of the homogenization mixtures employed is



2. Titres of AMV, TBRV, and CMV in sap from raspberry leaves

concerned, our choice was based on literature dates relating the transmission of viruses with globular particles, especially nepoviruses from raspberry plants or fruit trees to assay plants. C o n v e r s e (1979) used phosphate buffer with nicotine (mixture 1), whereas K r c z a l et al. (1985) used phosphate buffer supplemented with polyvinylpyrrolidone (mixture 2) for the transmission of viruses transmissible with plant sap, and aqueous solution of nicotine supplement with Al_2O_3 and celite (mixture 5) for the demonstration of viruses transmitted by nematodes. H a r r i s o n (1958b) used celite with distilled water (mixture 3) to transmit AMV from infected raspberry plants, and K e g l e r and O p e l (1963) used Tris-HCl buffer with nicotine to transmit cherry leaf roll virus from infected cherry trees to assay plants (mixture 4). This mixture was also successfully used by Č e c h et al. (1980) to transmit a mixture infection caused by strawberry latent ringspot virus and cucumber green mottle mosaic virus from infected apricot trees to *C. quinoa* and *C. sativus*.

According to conclusions reported by **C o n v e r s e** (1978) for tomato ring spot virus which belongs to the same group as AMV and TBRV, sap from infected raspberry leaves diluted as indicated above was employed for the virus transmissions in our experiments. The viruses could be transmitted to assay plants when undiluted sap or sap diluted 1:2 was used for inoculation, with the exception of the mixture (4), in which case the endpoint of AMV and TBRV transmission to *C. amaranticolor* and AMV transmission to *P. hybrida* was recorded at the 1:4 dilution (one plant among ten was infected in the former case, two plants in the latter case). When the homogenization mixture (1) was used, the transmission of AMV and TBRV to *C. amaranticolor* was partially successful (the application of undiluted inoculum resulted in 8 infected plants among 10, whereas the application of 1:2 diluted inoculum in 3 infected plants out of 10), and TBRV could be transmitted to *N. tabacum* (7 and 4 plants, respectively, were infected). When the homogenization mixture (2) was used, CMV could be transmitted to *C. sativus* (9 and 3 plants, respectively) and to *N. tabacum* (8 and 2 plants, respectively). In case of the homogenization mixture (4), in addition to the already mentioned transmissions, CMV could be transmitted to *C. sativus* (8 and 3 plants, respectively), and AMV to *N. tabacum* (6 and 2 plants, respectively), and in case of the homogenization mixture 5, AMV and TBRV could be transmitted to *C. amaranticolor* (8 and 5 plants, respectively) and to *P. hybrida* (7 and 4 plants, respectively).

For purposes of a complex comparison of the effects of the homogenization mixtures and of virus concentrations on the efficacy of the transmissions of mixture infection with AMV, TBRV, and CMV to assay plants, the parameter Z was determined according to the formula:

$$Z = (Ax \cdot Bx \cdot Cx)/(A \cdot B \cdot C),$$

in which A = the number of viruses to be transmitted (3), B = the number of inoculated assay plants within particular species (40), C = the number of examined dilutions (4), Ax = the number of viruses which were successfully transmitted, Bx = the total number of infected assay plants within particular species, and Cx = the endpoint of inoculum dilution at which transmission was still successful.

The efficacy of each homogenization mixture was determined as the sum of the parameter Z ($\sum Z$). The results obtained are surveyed in Table I.

I. A comparison of the influence of different homogenization mixtures and virus concentration on the effectivity of viruses transmission by means of parametr Z

Test plants mixtures and dilutions	<i>C. amaranticolor</i>	<i>C. sativus</i>	<i>N. tabacum</i>	<i>P. hybrida</i>	Σ_z
1	0.183	0.000	0.046	0.000	0.229
2	0.000	0.050	0.042	0.000	0.092
3	0.046	0.000	0.000	0.000	0.046
4	0.400	0.046	0.034	0.158	0.638
5	0.267	0.000	0.000	0.183	0.450

They show that best results were achieved with the homogenization mixture (4) ($\Sigma_z = 0.638$). When compared with the mixture (4), the mixture (1) reached a 35.9 % efficacy rate, the mixture (2) 14.4 %, (3) 7.2 %, and (5) 71.4 %. The low efficacy rates of the mixtures (2) and (3) presumably were the result of low pH values of the leaf sap squeezed out of the homogenates which was then used for inoculation. Average pH values (five measurements) were 6.91 and 6.67, respectively, whereas mean pH values of plant sap samples prepared with other homogenization mixture were as follows: (1) 8.76; (4) 8.84; (5) 8.95.

References

- BRČÁK, J.: Über die Interferenz des Tabakmosaikvirus mit dem Gurkenmosaikvirus in der Tabakpflanze. *Biol. Plant.*, 4, 1962 : 176-181.
- CONVERSE, R. H.: Detection of tomato ringspot virus in red raspberry by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Pl. Dis. Repr.*, 62, 1978 : 189-192.
- CONVERSE, R. H.: Recommended virus-indexing procedure for USDA small fruit and grape cultivars. *Pl. Dis. Repr.*, 63, 1979 : 848-851.
- COTTEN, J. - PEMBERTON, A. W. - MATHIAS, P. L.: An outbreak of raspberry yellow dwarf (AMV) in red raspberry entered for special stock certificate. *Pl. Path.*, 27, 1978 : 151-153.
- ČECH, M. - FILIGAROVÁ, M. - POZDĚNA, J. - BRANIŠOVÁ, H.: Strawberry latent ringspot and cucumber green mottle mosaic viruses in apricots with the bare twig unfruitfulness disease syndrome. *Acta phytopath. Acad. Sci.*, 15, 1980 : 391-396.
- DALE, W. T. - BROWN, E. B.: Nepoviruses in raspberries in the West Midlands. *Pl. Pathol.*, 22, 1973 : 65-66.
- EDWARDS, M. - COOPER, J. I.: Plant virus detection using a new form of indirect ELISA. *J. virol. Meth.*, 11, 1985 : 305-319.
- HABILI, N. - FRANCKI, R. I. B.: Comparative studies on tomato aspermy and cucumber mosaic virus. I. Physical and chemical properties. *Virology*, 57, 1974 : 392-401.
- HARRISON, B. D.: Cucumber mosaic virus in raspberry. *Pl. Path.*, 7, 1958a : 109-111.
- HARRISON, B. D.: Further studies on raspberry ringspot and tomato black ring, soil-borne viruses that affect raspberry. *Ann. appl. Biol.*, 46, 1958b : 571-585.
- JONES, A. T.: Some effects of latent virus infection in red raspberry. *Acta hort.*, 95, 1980 : 63-70.

- JONES, A. T.: Some effects of latent virus infection in red raspberry. *Acta hort.*, 95, 1980 : 63-70.
- KEGLER, H. - OPEL, H.: Ein verbessertes Verfahren zum Nachweis von Ringfleckenviren der Kirsche mit kranrigen Testpflanzen. *Thaer. Arch.*, 7, 1963 : 237-244.
- KEGLER, H. - KLEINHEMPEL, H.: Beerenobstarten. In: KLINKOWSKI, M. (Ed.): *Pflanzliche Virologie*. Bd. 3. Berlin, Akademie-Verlag 1977 : 316-374.
- KRCZAL, H. - BAUMANN, G. - HAMDORF, G.: Richtlinie für die Virustestung bei *Rubus* und *Ribes*. *Nachr.-Bl. Dtsch. Pfl.-Schutzdienst (Stuttgart)*, 37, 1985 : 103-108.
- LISTER, R. M.: Strawberry latent ringspot: a new nematode - borne virus. *Ann. appl. Biol.*, 54, 1964 : 167-176.
- POLÁK, J. - KRÍSTEK, J.: Stanovení rostlinných virů dvojitou sendvičovou metodou ELISA testem s IgG značenými peroxidázou ze křenu. In: *Sbor. Sem. Praktická diagnostika rostlinných virů ELISA testem*. Praha-Ruzyně, 1986 : 13-22.
- SCHMELZER, K. - WOLF, P.: Wirtspflanzen und ihre Viren. *Virosen und Mykoplasmosen*. In: KLINKOWSKI, M. (Ed.): *Pflanzliche Virologie*. Bd. 1. Berlin, Akademie-Verlag 1977 : 53-189.
- SUTULA, CH. - GILLET, J. M. - MORRISSEY, S. M. - RAMSDELL, D. C.: Interpreting ELISA data and establishing the positive - negative threshold. *Pl. Dis.*, 70, 1986 : 722-726.
- ŠÍMA, J. - MANČAL, P. - BOUZEK, J.: Numerické zpracování výsledků kvantitativních imunoenzymatických analytických metod na mikropočítači. Praha, Ústav sér a očkovacích látek 1985.
- WATERWORTH, H. E.: Purification of arabic mosaic virus isolated from a jasmine plant introduction. *Phytopathology*, 65, 1975 : 927-928.
- ŽÁK, P.: Virus svinutky bramboru - provokace a retardace průběhu onemocnění a zvýšení spolehlivosti diagnostiky. [Kandidátská disertace.] Praha 1987. - Ústav experimentální botaniky ČSAV.

Došlo dne 5. 4. 1991

L. Smrčka, I. Babůrek (Ústav experimentální botaniky ČSAV, Praha)

Přenos směsné infekce vyvolané virem mozaiky huseníku, virem černé kroužkovitosti rajčete a virem mozaiky okurky z listů přirozeně ochuravělých rostlin maliníku, *Rubus idaeus* L., na testovací rostliny

Virus mozaiky huseníku (Arabis mosaic virus - AMV), virus černé kroužkovitosti rajčete (tomato black ring virus - TBRV) a virus mozaiky okurky (cucumber mosaic virus - CMV) byly zjištěny pomocí imunoenzymatického testu v přirozeně ochuravělé rostlině maliníku. Koncentrace AMV a CMV ve vyšetřovaných vzorcích byla 7, 53 a 4,14 μg . Pro přenos virů z listů infikované rostliny byl použit 0,02M fosfátový pufr s 2 % (hm./obj.) nikotinu nebo polyvinylpyrrolidonu; Tris-HCl pufr rovněž s 2 % (hm./obj.) nikotinu a vodné roztoky s přísadou celitu nebo nikotinu, celitu a Al_2O_3 . Pro srovnání vlivu těchto homogenizačních roztoků a koncentrace virů na přenos směsné infekce AMV, TBRV a CMV na vybrané testovací rostliny byl stanoven parametr $Z = Ax.Bx.Cx/A.B.C$, kde: A = počet přenášených virů (3), B = celkový počet inokulovaných rostlin od jednoho druhu (40), C = počet testovaných

ředění (4), A_x = počet virů, které byly přeneseny, B_x = celkový počet infekčních rostlin od jednoho druhu a C_x = konečný bod ředění inokula, při němž byl dosažen přenos. Efektivita každého homogenizačního roztoku byla stanovena jako suma parametru $Z(\sum z)$. Výsledky tohoto porovnání jsou přehledně uvedeny v tab. I. Z těchto údajů vyplývá, že nejúčinnější byl homogenizační roztok č. 4 ($\sum z = 0,638$). Roztok č. 1 dosahoval v porovnání s tímto roztokem účinnosti 35,9 %, č. 2 14,4 %, č. 3 - 7,2 % a č. 5 - 71,4 %. Nízká účinnost roztoku č. 2 a 3 je pravděpodobně způsobena nízkým pH šťávy vylisované z homogenátu a použité při inokulaci. V našich pokusech byl průměr pH těchto roztoků z pěti měření 6,91 a 6,67. Pro srovnání u roztoku č. 1 činil tento průměr 8.76, u roztoku č. 4 - 8,84 a č. 5 - 8,95.

virus mozaiky huseníku; virus černé kroužkovitosti rajčete; virus mozaiky okurky; *Rubus idaeus* L.; přenos

AD *eko*
A.S.

**VÝHODNÝ LEASING
STROJŮ A ZAŘÍZENÍ
NEJEN PRO ZAČÍNÁJÍCÍ
PODNIKATELE**

ADEKO a. s. Vám nabízí

- kapitálovou účast v jiných podnikatelských subjektech
- společné podnikání
- poradenskou, konzultační a zprostředkovatelskou činnost v oboru ekologie
- investorskou a investiční činnost
- řešení odbytových potíží výrobcům a obchodním organizacím formou leasingového financování

ADEKO a. s.
Slezská 7
120 56 Praha 2
tel.: 258 342
fax.: 207 229

SUITABILITY OF *EXETASTES CINCTIPES* RETZIUS AND *MICROPLITIS MEDIATOR* HALIDAY FOR MASS REARING AGAINST CABBAGE MOTH

Mirko SLOVÁK

*Institute of Experimental Phytopathology and Entomology, Slovak Academy of Sciences,
900 28 Ivanka pri Dunaji, Czechoslovakia*

The cabbage moth, *Mamestra brassicae* L. (Lep., Noctuidae), is a serious pest of more than 90 different species of plants, especially from the family Brassicaceae. Protection against this pest is realized till now mainly by means of insecticides. This method is still more problematic and/or more expensive. One of the possibilities how to minimize it and at the same time to decrease the population density of cabbage moth, there is the utilizing of its natural parasitoids. To the community of parasitoids of this noctuid belong solitary larval endoparasitoids *Exetastes cinctipes* Retz. (Hym., Ichneumonidae) and *Microplitis mediator* Hal. (Hym., Braconidae). Unlike *E. cinctipes* which is dominant or belongs to the most abundant parasitoids of this pest, *M. mediator* is either an important part of the parasitoid community which attacks cabbage moth or it parasitizes this pest only seldom in the field. However, it attacks at least 40 other host's species which secures the better survival of this braconid.

Temperature requirements of *E. cinctipes* and cabbage moth

Generally speaking, the rates of most stages of insect development are directly proportional to temperature as in other cold-blooded animals. Campbell et al. (1974) stated that the temperature requirements of the parasitoids and hyperparasitoids differ in a similar manner, though, as a rule, they are usually higher than those of their hosts. The cabbage moth and ichneumonid *E. cinctipes* have also similar temperature claims for their development as it is shown in Table I where the mean developmental periods at a single constant temperature (24 °C) were chosen for simple comparisons. These data and experience (see also Table II) were obtained at the study of effects of the temperature upon the developmental periods and longevity of adults of *E. cinctipes* and *M. mediator* by Slovák (1982, 1985, 1986, 1987). They are completed with the data relating the length of pupal development and the longevity of adults of cabbage moth as referred by Kazimírová (1987). Differences in developmental periods from laying eggs by parasitoid (into the second-instar larvae of the host) to forming the cocoons (by parasitoids) and pupae (by hosts) are very small (0.2

or 2.2 days at 20 or 28.9 °C, respectively. The average length of development into cocoon, resulting from the formula $342.6 \cdot D_{7.6}^{-1}$ for forecasting the developmental rate of this parasitoid stage (S l o v á k, 1987), is 20.9 days at 24 °C. It is in average 1.5 days fewer than at this temperature lasted the development of host in pupae (Table I). The data obtained from the field observations confirm also the fact that the temperature requirements of both species are not very distinct. *E. cinctipes* has only one generation per a year in agreement with one generation of this host in Moscow region (K o p v i l l e m, 1960). According to B í r o v á (1973, 1976) *E. cinctipes* attacks both the first and the second generation of cabbage moth in Czechoslovakia.

I. Developmental periods and longevity of adults of *Mamestra brassicae*, *Exetastes cinctipes* and *Microplitis mediator* at 24 °C (mean data)

Species	Development (in days)			Longevity of adults (in days)
	Egg - Pupa (Cocoon)	Pupa (Cocoon)	Total	
<i>Mamestra brassicae</i>	24.4	22.4	46.8	8.8
<i>Exetastes cinctipes</i>	19.7	20.9	40.6	15.0
<i>Microplitis mediator</i>	11.9	5.9	17.8	10.2

Temperature requirements of *M. mediator* and cabbage moth

While developmental rates in *E. cinctipes* and *M. brassicae* are similar, those in *M. mediator* and cabbage moth differ to a considerable degree. For example, at 24 °C *M. mediator* develops from egg to imago 2.6 times faster on an average than its host - cabbage moth (Table I). Especially its development into cocoon is very fast (3.8 times faster than the development of cabbage moth in pupae). It means that temperature requirements of these two species are different. This can lead to the wrong time coincidence of parasitoid's adults and suitable developmental host stages for parasitization. Consequently, the cabbage moth is seldom parasitized by this species. The effectiveness of this braconid could be in the field more higher if it was mass reared and released in the nature at the time of the presence of suitable host stages.

Suitability for mass rearing

Comparing the suitability of ichneumonid *E. cinctipes* and braconid *M. mediator* for mass rearing from practical point of view, it is possible to state that *M. mediator* is more suitable (see Table II). Its embryonal and larval

development is relatively short. Larvae of parasitoid egress already from the host larvae when they are in the third or in the fourth instar. From these reasons the requirements for labour, space and food for host are relatively low. Diapause is facultative. All these parameters call attention to the possibility of mass rearing of this parasitoid against cabbage moth. Besides, laboratory technique for mass-rearing of another species - *Microplitis rufiventris* was already developed (H e g a z i , E l - M i n s h a w y , 1979).

II. Comparison of characteristics for mass-rearing of *Exetastes cincipies* and *Microplitis mediator* (+ advantage; - disadvantage]

Characteristics	<i>Exetastes cincipies</i>		<i>Microplitis mediator</i>	
Total development at 19 - 26 °C (in days)	58.3 - 36.3	-	29.1 - 15.0	+
Diapause	obligatory	-	facultative	+
Longevity of adults at 17 - 24 °C (* 23.5 °C) (in days)	26.2 - 15.0	+	32.4 - 10.2*	+
Resistance of adults to cold	yes	+	not known	
Fecundity (in average)	422.7	+	172.5	-
Eggs are layed into host's instar	1st - 3rd	+	1st	-
Larvae of parasitoid egress the host's larvae when the latter are	almost fully grown	-	in the 3rd - 4th instar	+
Damages caused by parasitized larvae	considerable	-	weak	+
Mortality during the rearing	50 - 80 %	-	10 - 30 %	+
Requirements for space, food, labour	considerable	-	relatively low	+

Conclusions

Temperature requirements for total development of both ichneumonid *Exetastes cincipies* and its host *Mamestra brassicae* are similar. In contrast, those in braconid *Microplitis mediator* and its host cabbage moth are distinct and the time coincidence of the suitable developmental stages of these two species can be often broken. Consequently, the effectiveness of *M. mediator* in the field is often weaker than that of *E. cincipies*. On the other hand, *M. mediator* is more suitable for mass rearing in laboratory conditions and utilizing in practice.

References

- BÍROVÁ, H.: K poznaniu prirodzených nepriateľov (z radu *Hymenoptera* a *Diptera*) niektorých škodlivých druhov mor (*Noctuidae*). Biol. Práce SAV, 19, 1973 : 84.
- BÍROVÁ, H.: Sezónna dynamika výskytu vajčiek a húseníc mory kapustovej (*Mamestra brassicae* L.) a ich úmrtnosť. In: HUBA, A. - JASÍČ, J. (Eds): Práce Úst. Exp. Fytopat. Ent. Bratislava, Veda 1976 : 243-256.
- CAMPBELL, A. - FRAZER, B. D. - GILBERT, N. - GUTIERREZ, A. P. - MACKAUER, M.: Temperature requirements of some aphids and their parasites. J. appl. Ecol., 11, 1974 : 431-438.
- HEGAZI, E. M. - EL-MINSHAWY, A. M.: Laboratory technique for mass-rearing *Microplitis rufiventris* Kok. (*Braconidae; Hymenoptera*), an internal parasite of the cotton leaf-worm *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (*Noctuidae; Lepidoptera*). Boll. Lab. Ent. Agr. F. Silvestri, 36, 1979 : 205-210.
- KAZIMÍROVÁ, M.: Vplyv populačnej hustoty a skupinového efektu na bionómiu, morfológiu a fyziológiu mory kapustovej, *Mamestra brassicae* L. (*Noctuidae, Lepidoptera*). [PhD. Thesis.] Ivanka pri Dunaji 1987, 210 p. - Ústav experimentálnej fytopatológie a entomológie.
- KOPVILLEM, Kh. G.: Materialy k izucheniyu entomofagov kapustnoj sovki i kapustnoj moli v Moskovskoj oblasti. Ent. Obzor, 39, 1960 : 806-818.
- SLOVÁK, M.: Bionómia endofágnych blanokrídlovcov (*Hymenoptera*) mory kapustovej (*Mamestra brassicae* L.). [PhD. Thesis.] Ivanka pri Dunaji 1982, 205 p. - Ústav experimentálnej fytopatológie a entomológie.
- SLOVÁK, M.: Biological observations on *Microplitis mediator* Hal. (*Hym., Braconidae*). Biológia (Bratislava), 40, 1985 : 987-996.
- SLOVÁK, M.: Longevity of adults and fecundity in *Exetastes cinctipes* Retz. (*Hym., Ichneumonidae*). Biológia (Bratislava), 41, 1986 : 105-114.
- SLOVÁK, M.: Influence of temperature and host's nutritional conditions on development of the immature stages of *Exetastes cinctipes* Retz. (*Hym., Ichneumonidae*). Biológia (Bratislava), 42, 1987 : 587-596.

Received for publication March 1, 1991

*M. Slovák (Ústav experimentálnej fytopatológie a entomológie SAV,
Ivanka pri Dunaji)*

Vhodnosť *Exetastes cinctipes* Retzius a *Microplitis mediator* Haliday pre masový chov proti more kapustovej

Teplotné požiadavky pre celkový vývoj lumka *Exetastes cinctipes* a jeho hostiteľa *Mamestra brassicae* sú podobné. V protiklade, teplotné požiadavky lumčika *Microplitis mediator* a jeho hostiteľa mory kapustovej sú rozdielne a časová zhoda výskytu vhodných vývojových štádií týchto dvoch druhov môže byť často narušená. Nasledovne, efektivita *M. mediator* v prírode je často slabšia ako efektivita *E. cinctipes*. Na druhej strane, *M. mediator* je vhodnejší pre masový chov v laboratórnych podmienkach a využívanie v praxi.

SEPARÁCIA A PRENOS DVOCH VÍRUSOV BÔBOVITÝCH RASTLÍN VOŠKAMI PRI ZMIEŠANÝCH INFEKCIÁCH

Matúš JURÍK, Katarína ZÁHOROVA¹

Virologický ústav SAV, Dúbravská cesta 9, 842 46 Bratislava;

¹Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, 842 15 Bratislava

Na separáciu vírusu výrastkovej mozaiky hrachu (PEMV) a vírusu žltej mozaiky fazule (BYMV) zo zmiešanej infekcie sme použili vošky *Aphis craccivora* a *Acyrtosiphon pisum*. Zistili sme, že BYMV možno oddeliť zo zmiešanej infekcie BYMV a PEMV a preniesť s relatívne vysokou efektívnosťou voškou *A. craccivora*. Podobne PEMV možno oddeliť a preniesť zo zmiešanej infekcie PEMV a BYMV voškou *A. pisum* na imúnny odrodu hrachu na infekciu BYMV. Pri 240-dňovom pretrvávaní zmiešanej infekcie obidvoma vírusami v *T. incarnatum* bola efektívnosť prenosu jednotlivých vírusov tak vysoká, ako pri 30dňovej dĺžke infekcie. Popísanú metódu možno využiť na jednoduchú separáciu PEMV a BYMV zo zmiešanej infekcie prirodzene alebo experimentálne infikovaných rastlín ďateliny a hrachu.

Pisum sativum L.; *Trifolium incarnatum* L.; vírus výrastkovej mozaiky hrachu; vírus žltej mozaiky fazule; zmiešaná infekcia; separácia vírusov; prenos voškami; Potyvirus

Pri výskume prenosu vírusov bôbovitých rastlín voškami (Homoptera, Aphididae) sa väčšia pozornosť venovala infekciám spôsobeným jedným vírusom, aj keď zmiešané infekcie dvoma alebo niekoľkými druhmi vírusov sú bežné (napr. M u s i l et al., 1981; C o c b a i n et al., 1983). V predchádzajúcej práci sa zistilo, že prenos vírusu výrastkovej mozaiky hrachu (pea enation mosaic virus - PEMV) a žltej mozaiky fazule (bean yellow mosaic virus - BYMV) voškami *Acyrtosiphon pisum* sa vzájomne neovplyvňuje (J u r í k , 1984).

Pokúsili sme sa o separáciu PEMV a BYMV zo zmiešanej infekcie rastlín ďateliny a hrachu a porovnali sme ich prenosnosť voškami na náchylné, resp. odolné odrody hrachu. Vzhľadom na úlohu ďatelinovín ako prirodzených rezervoárov týchto vírusov v ČSFR, sme určili aj efektívnosť prenosu PEMV a BYMV voškami z *Trifolium incarnatum*.

MATERIÁL a METÓDY

V pokusoch sme použili vírus žltej mozaiky fazule izolát B (J u r í k , 1981) a vírus výrastkovej mozaiky hrachu izolát HS (poskytol Dr. M. Musil, Virologický ústav SAV).

Spôsob zistenia efektívnosti prenosu BYMV a PEMV sme popísali v predchádzajúcich prácach (Jurík et al., 1980; Jurík, 1981, 1984).

Pri prenose vírusov boli zdrojmi infekcie novovyrastajúce listy ďateliny purpúrovej (*T. incarnatum* L.) alebo rastliny hrachu (*Pisum sativum* L.). Použili sme 1 až 3dňové nymfy vošky hrachovej (*A. pisum* /Harris/- červená klon VL) a vošky lucernovej (*Aphis craccivora* /Koch/ - klon TP) z laboratórneho chovu (Jurík et al., 1980; Jurík, 1981).

Na separáciu BYMV od PEMV zo zmiešanej infekcie sme použili *A. craccivora*, ktorou sme BYMV prenášali na odrodu hrachu Junák, pri 5minútovom nadobúdanom cicaní (NC) a 24hodinovom inokulačnom cicaní (IC). Voškou *A. pisum* sme prenášali PEMV z toho istého zdroja (BYMV + PEMV) pri 24hodinovom NC a 24hodinovom IC na odrodu hrachu Dark Skin perfection.

Pri sériovom prenose, po 5minútovom alebo 24hodinovom NC na zdroji vírusov, sme vošky postupne prenášali na dve série indikátorových (testovacích) rastlín hrachu odroda Meteor. Dĺžka IC bola 5 minút alebo 24 hodín (1. séria) a 24 hodín (2. séria) - pozri tab. III a IV.

VÝSLEDKY a DISKUSIA

Zistili sme, že PEMV sa prenáša s relatívne vysokou efektívnosťou voškami *A. pisum* na odolnú (imúnnu) odrodu hrachu na infekciu BYMV. Pri použití odrody Dark Skin perfection bola efektívnosť prenosu PEMV z *T. incarnatum* (infekcia BYMV + PEMV) približne rovnaká ako pri prenose na odrodu Junák (tab. I), ktorá je vysoko náchylná na infekciu obidvoma vírusami.

I. Prenos PEMV voškou *A. pisum* zo zmiešanej infekcie PEMV a BYMV rastlín hrachu cv. Junák a ďateliny purpúrovej - The transmission of PEMV by *A. pisum* from mixed infection (PEMV + BYMV) in *P. sativum* cv. Junák and *T. incarnatum*

Indikátorová rastlina ¹	Zdroj vírusov ⁴			
	<i>P. sativum</i> cv. Junák		<i>T. incarnatum</i>	
	počet inokulovaných a infikovaných rastlín ²	efektívnosť prenosu ³ [%]	počet inokulovaných a infikovaných rastlín	efektívnosť prenosu [%]
1	63/47	74,6	59/48	81,3
2	68/50	73,5	60/43	71,6

1 - *P. sativum* cv. Dark Skin perfection; 2 - *P. sativum* cv. Junák

V testoch sa použilo po päť vošiek na jednu indikátorovú rastlinu - There were used five aphids per one indicator plant in the tests

¹indicator plant; ²number of inoculated and infected plants; ³effectiveness of transmission; ⁴source of viruses

V druhej skupine pokusov (tab. II) sme dokázali, že BYMV možno oddeliť a preniesť s vysokou efektívnosťou z *P. sativum* cv. Junák (infekcia PEMV + BYMV) na tú istú odrodu Junák voškami *A. craccivora*, napriek tomu, že vírusový antigén PEMV bol v *A. craccivora* prítomný (J u r í k , G ä l l o , 1989). Týmto spôsobom možno preniesť, resp. izolovať PEMV a BYMV zo zmiešaných infekcií prirodzene alebo experimentálne infikovaných rastlín. Pri izolácii X a Y vírusov zemiaka zo zmiešanej infekcie sa využili rezistentné druhy rastlín (napr. F i e d o r o w , 1974).

II. Prenos BYMV voškou *A. craccivora* zo zmiešanej infekcie PEMV a BYMV v rastlinách hrachu cv. Junák - The transmission of BYMV by *Aphis craccivora* from mixed infection (PEMV + BYMV) in *P. sativum* cv. Junák

Indikátorová rastlina ¹	<i>Pisum sativum</i> cv. Junák			
	1 voška /1 rastlina ⁴		5 vošiek/1 rastlina ⁵	
	počet inokulovaných a infikovaných rastlín ²	efektívnosť prenosu ³ [%]	počet inokulovaných a infikovaných rastlín	efektívnosť prenosu [%]
1	190/10	9,1	102/46	54,0
2	112/15	13,3	128/63	49,2

1 = v zdroji infekcie dva vírusy - two viruses in the infection source; 2 = kontrola (v zdroji len BYMV) - control (BYMV in the source only)

For 1 - 3 see Table I; ⁴ 1 aphid per 1 plant; ⁵ 5 aphids per 1 plant

Z rastlín *T. incarnatum* (zmiešaná infekcia PEMV + BYMV) *A. pisum* preniesla na hrach odroda Meteor obidva vírusy súčasne, alebo jeden z dvojice týchto vírusov. Napr. z 36 vošiek preniesli 3 vošky PEMV a BYMV súčasne, 4 vošky preniesli len BYMV, 8 vošiek len PEMV a 20 vošiek neprenieslo žiadny z vírusov. Potvrdili sa predchádzajúce poznatky, že prenos BYMV a PEMV sa vzájomne neovplyvňuje (J u r í k , 1984).

Pri krátkom 5minútovom NC a 5minútovom IC na zdroji PEMV a BYMV (30 dní po infekcii) sa preniesol BYMV na 1. sériu testovacích rastlín s 39,0% efektívnosťou a na 2. sériu pri ihneď nasledujúcom 24hodinovom IC s 29,2% efektívnosťou, zatiaľ čo PEMV sa za týchto podmienok nepreniesol (tab. III). Pri 24hodinovom NC a 5minútovom IC sa BYMV preniesol s 19,4% efektívnosťou na 1. sériu a nepreniesol sa pri ihneď nasledujúcom ďalšom 24hodinovom IC. Efektívnosť prenosu PEMV za rovnakých podmienok bola 30,5 % (tab. III).

III. Sériový prenos BYMV a PEMV voškou *A. pisum* zo zmiešanej infekcie v *T. incarnatum*, 30 dní po inokulácii - The series transmission of BYMV and PEMV by *A. pisum* from mixed infection in *T. incarnatum* (30 days after inoculation)

Vírus ¹	1. séria rastlín ⁴		2. séria rastlín ⁵	
	počet inokulovaných a infikovaných rastlín ²	efektívnosť prenosu ³ [%]	počet inokulovaných a infikovaných rastlín	efektívnosť prenosu [%]
BYMV I	41/16	39,0	41/12	29,2
II	36/7	19,4	36/0	0
PEMV I	41/0	0	41/0	0
II	36/2	5,5	36/11	30,5

Platí pro tab. III a IV - Holds for Tables III and IV:

I - päťminútová nadobúdace cicanie - five-minute increasing sucking; II - 24hodinové nadobúdace cicanie - 24-hour increasing sucking; Inokulačné cicanie - 1. séria 5 min., 2. séria 24 hod, použila sa 1 voška na 1 rastlinu - inoculation sucking - the 1st series 5 min., the 2nd series 24 h, there was used 1 aphid per 1 plant

¹vírus; ⁴the 1st series of plants; ⁵the 2nd series of plants; for ²and ³see Table I

Zistili sme, že 240 dní po infekcii *T. incarnatum* (PEMV a BYMV) bola efektívnosť prenosu jednotlivých vírusov na približne rovnakej úrovni ako 30 dní po infekcii (tab. IV). Koncentrácia oboch vírusov v mladých novovyrastajúcich listoch *T. incarnatum* bola v týchto rôznych časových obdobiach na pomerne vysokej úrovni (titer infekčného vírusu 10^{-3}). V kontrolných pokusoch (v zdroji len PEMV alebo len BYMV) pri 5minútovom NC a 5minútovom IC bola 30 dní po infekcii efektívnosť prenosu 27,5 % (BYMV) a 3,3 % (PEMV). Pri 24hodinovom NC a IC sa zistili hodnoty 25,0 % (BYMV) a 33,3 % (PEMV). Štyridsať dní po infekcii pri 24hodinovom NC a 24hodinovom IC efektívnosť prenosu bola 65,0 % (PEMV), resp. 30,0 % (BYMV).

IV. Sériový prenos BYMV a PEMV voškou *A. pisum* zo zmiešanej infekcie v *T. incarnatum*, 240 dní po inokulácii - The series transmission of BYMV and PEMV by *A. pisum* from mixed infection in *T. incarnatum* (240 days after inoculation)

Vírus ¹	1. séria rastlín ⁴		2. séria rastlín ⁵	
	počet inokulovaných a infikovaných rastlín ²	efektívnosť prenosu ³ [%]	počet inokulovaných a infikovaných rastlín	efektívnosť prenosu [%]
BYMV I	29/9	31,0	29/6	20,6
II	32/5	15,6	32/0	0
PEMV I	29/0	0	29/0	0
II	32/1	3,1	32/8	25,0

Vysoká efektívnosť prenosu BYMV i PEMV voškami, počas dlhého pretrvávania vírusov vo vysokej hladine v zmiešaných infekciách, znásobujú význam ďatelinovín ako zdrojov infekcie.

Pod'akovanie

Ďakujeme Dr. M. Musilovi, CSc., za poskytnutie HS izolátu vírusu výrastkovej mozaiky hrachu.

Literatúra

- COCBAIN, A. J. - WOODS, R. D. - CALILUNG, V. C. J.: Necrosis in field beans (*Vicia faba*) induced by interactions between bean leaf roll, pea early-browning and pea enation mosaic viruses. *Ann. appl. Biol.*, 102, 1983, s. 495-499.
- FIEDOROW, Z.: Izolowanie wirusow ziemniaka Y^o , Y^a i Xz kompleksu za pomoca roslin testowych. *Rocz. Nauk roln.*, 1, 1974, s. 197-228.
- JURÍK, M.: Transmission of nonpersistent virus by aphids carrying a circulative virus. *Plant Virology, Proc. 9th Conf. Czechosl. Pl. Virol.*, Brno, 1981, s. 77-81.
- JURÍK, M.: Prenos cirkulatívneho vírusu a neperzistentných vírusov voškou hrachovou (*Acyrtosiphon pisum*) pri zmiešaných infekciách rastlín hrachu. *Biológia* (Bratislava), 39, 1984, s. 1101 až 1106.
- JURÍK, M. - GALLO, J.: Antigen vírusu výrastkovej mozaiky hrachu vo voškách vektorov a nevektorov. *Ochr. Rostl.*, 25, 1989, s. 171-176.
- JURÍK, M. - MUCHA, V. - VALENTA, V.: Intraspecies variability in transmission efficiency of stylet-borne viruses by the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*). *Acta virol.*, 24, 1980, s. 351-357.
- MUSIL, M. - KVÍČALA, B. A. - LEŠKOVÁ, O.: Diagnostika vírusov strukovín a ďatelinovín. Bratislava, Veda - Vyd. SAV 1981, s. 175.

Došlo dňa 15.2.1991

M. Jurík, K. Záhorová (*Institute of Virology, Slovak Academy of Sciences; Natural Sciences of Comenius University, Bratislava, Czechoslovakia*)

Separation and transmission of two legumes viruses from mixed infection by aphids

Pea enation mosaic virus (PEMV) and bean yellow mosaic virus (BYMV) were separated from mixed infection in clover and pea by aphids *Acyrtosiphon pisum* and *Aphis craccivora*. After 5 min. acquisition and 24 hours test feeding BYMV was transmitted from the source of mixed infection PEMV and BYMV to *Pisum sativum* L. cv. Junák by *A. craccivora*. After 24 hours acquisition and 24 hours test feeding, PEMV was transmitted from the same source (PEMV and BYMV) to *P. sativum* L. cv. Dark Skim perfection by *A. pisum*.

A relative high possibility of separation BYMV from mixed infection and of virus transmission efficiency by *A. craccivora* was determined experimentally (Table II). *A. craccivora* is able to transmit BYMV, but not PEMV, in spite of the fact that PEMV antigen in *A. craccivora* was found (Jurík and Gallo, 1989) after feeding of this aphids on infected plants.

We demonstrated the possibility of separation and transmission of PEMV and BYMV from mixed infection by *A. pisum* with relative high efficiency (Table I). From mixed infection (PEMV + BYMV) PEMV was transmitted to cv. Dark Skin perfection (immune to BYMV) with equal efficiency as to cv. J u n á k , which is highly sensitive to both PEMV and BYMV infection.

Aphids *A. pisum* transmitted both viruses simultaneously or one of these viruses to pea plants cv. Meteor. Neither BYMV nor PEMV did influence the transmission of the other virus.

An interesting finding was that after 240 days lasting mixed infection of *Trifolium incarnatum* by BYMV and PEMV the efficiency of the transmission of these viruses was as high as after 30 days infection (Tables III and IV). This fact emphasises the importance of clover as a possible source of infections.

The described method can be used for simple separation of PEMV and BYMV from mixed infection in naturally or experimentally infected clovers and peas.

Pisum sativum L.; *Trifolium incarnatum* L.; pea enation mosaic virus; bean yellow mosaic virus; mixed infection; separation of viruses; transmission by aphids; Potyvirus

STANOVENÍ VIRU ZÁPADNÍ ŽLOUTENKY ŘEPY POMOCÍ ELISA S POUŽITÍM PROTILÁTEK KONJUGOVANÝCH ANORGANICKOU PYROFOSFATASOU

Jaroslav POLÁK, Olga A. JEVTUŠENKO¹

Výzkumný ústav rostlinné výroby, 161 06 Praha-Ruzyně

¹Moskevská státní universita, Leninské Hory, 119 899 Moskva B-234

Stanovili jsme virus západní žloutenky řepy - beetwestern yellowe virus (BWYV) pomocí ELISA s protilátkami konjugovanými anorganickou pyrofosfatasou. Optimální koncentrace IgG BWYV byla 1 g/ml pro potažení mikrotitračních desek, optimální koncentrace konjugovaných protilátek měla aktivitu pyrofosfotasy 0,5 IU/ml. S těmito protilátkami jsme dosáhli spolehlivé a specifické výsledky při stanovení BWYV v různých druzích uměle a přirozeně infikovaných rostlin. Přítomnost viru byla prokázána modrozeleným zbarvením, jehož intenzita byla měřena fotometrem při 630 nm. Hodnoty absorpce zdravých vzorků a homogenizačního pufru dosahovaly 0,01 až 0,08. Hodnoty absorpce nemocných vzorků se pohybovaly od 0,3 do 2,5. BWYV byl stanoven v uměle infikovaných rostlinách hořčice bílé a *Physalis floridana* a v přirozeně infikovaných rostlinách řepy cukrové, řepky olejky, pcháče osetu, rozrazilu rolního, rozrazilu břečťanolistého, starčku obecného a vesnovky obecné.

virus západní žloutenky řepy; ELISA; anorganická pyrofosfataasa; řepa cukrová; řepka olejka; přezimující plevele

Metodu ELISA ke stanovení rostlinných virů vypracovali Clark a Adams (1977). Ke konjugaci protilátek pro stanovení rostlinných virů pomocí ELISA je možné použít různé enzymy a přehled o těchto systémech uvádí Oellerich (1983). Nejpoužívanější je alkalická fosfatasa a peroxidasa z křenu. Použití obou enzymů má některé nedostatky. Enzymové substráty jsou málo stabilní a v případě peroxidasy z křenu i mutagenní. V případě protilátek konjugovaných alkalickou fosfatasou má barevná reakce často nízkou intenzitu, což činí problémy především při vizuálním hodnocení. Při použití protilátek konjugovaných peroxidasou z křenu bývá vysoká úroveň reakce pozadí zdravých vzorků, i když se podařilo tento nedostatek eliminovat úpravou metodiky testu (Polák, Křístek, 1988). Nedávno použili Atbekov et al. (1987) ke konjugaci protilátek anorganickou pyrofosfatasou získanou z bakterie *Escherichia coli*. Glutaraldehydovou metodu konjugace protilátek s pyrofosfatasou vypracovali Baykov et al. (1988). Metodiku testu a výsledky stanovení dvanácti purifikovaných virů použitím protilátek konjugovaných s anorganickou pyrofosfatasou publikovali Miz-

nina et al. (1991). Stanovili tyto viry: Arabic mosaic virus (AMV), tobacco necrosis virus (TNV), soybean mosaic virus (SMV), potato leafroll virus (PLRV), potato virus M (PVM), potato virus S (PSV), potato virus X (PVX), potato virus Y (PVY), barley stripe mosaic virus (BSMV), carnation mottle virus (CarMV), carnation ringspot virus (CRSV) a cucumber mosaic virus (CMV).

Anorganická pyrofosfatasa hydrolyzuje anorganický pyrofosfát na ortho-fosfát. Předností systému protilátek konjugovaných anorganickou pyrofosfatou a substrátu anorganického pyrofosfátu je jejich vysoká stabilita. Substrát není mutagení.

Cílem naší práce bylo ověřit diagnostické možnosti ELISA s protilátkami konjugovanými anorganickou pyrofosfatou v přirozeně infikovaných rostlinách. Ke konjugaci jsme použili protilátky proti viru západní žloutenky řepy - beet western yellows virus (BWYV) a virus jsme se pokusili stanovit v přirozeně infikovaných rostlinách řepy cukrové, řepky olejky a v některých dvou a víceletých plevelích.

MATERIÁL a METODY

Rostlinný materiál

Ke stanovení BWYV pomocí ELISA s protilátkami konjugovanými anorganickou pyrofosfatou jsme použili rostliny hořčice bílé - *Sinapis alba* L. a *Physalis floridana* Rydb., uměle infikované virem. Listy rostlin s příznaky BWYV jsme homogenizovali v extrakčním pufru (viz postup testu). Stanovili jsme optimální ředění vzorků puftrem 1:5 (v/o). Při ověřování diagnostických možností stanovení BWYV protilátkami konjugovanými anorganickou pyrofosfatou jsme použili v podzimním období vzorky listů rostlin řepy cukrové s různými příznaky žloutnutí, pocházející z různých oblastí Československa. Dále jsme zkoušeli v jarním období vzorky rostlin řepky olejky - *Brassica napus* L. var. *arvensis* (Lam.) Thell. a některých plevelů s příznaky fialovění a žloutnutí spodních listů, pravděpodobné zdroje infekce BWYV.

Antisérum bylo z krve imunizovaných zvířat připraveno obvyklým způsobem. Pracovali jsme s antisérem proti BWYV připraveným T u č k o v o u a P o l á k e m (nepublikováno). Virus byl purifikován z rostlin *Physalis floridana* Rydb., infikovaných BWYV. Z rostlinných pletiv byl uvolněn enzymy celulasou a pektinasou, srážen polyethylenglykolem 6000 a koncentrován diferenciální centrifugací na sacharózovém polštáři. Imunizace králíka byla provedena kombinací intravenózních injekcí a intramuskulárních injekcí antigenu s Freundovým adjuvans.

Imunoglobulíny

Specifické imunoglobulíny IgG jsme z připraveného antiséra izolovali precipitací síranem amonným a purifikovali chromatografií na koloně DEAE celulózy. Podobný postup je popsán v práci P o l á k a K ř í s t e k (1988). Koncentraci získaných IgG jsme stanovili spektrofotometricky a upravili na 1 mg/ml s použitím extinkčního koeficientu $A_{280}^{0,1\%} = 1,3$ (B r a d f o r d , 1976).

Konjugace IgG s enzymem anorganickou pyrofosfatasou

Konjugaci IgG AS BWYV s anorganickou pyrofosfatasou (fy Fernet, Litva) jsme provedli glutaraldehydovou metodou (B a y k o v et al., 1988). 1 mg IgG jsme smíchali se stejným množstvím pyrofosfatasy (specifická aktivita 400 - 500 IU/mg) v PBS. Ke směsi IgG a pyrofosfatasy jsme přidali koncentrovaný glutaraldehyd, dále CaCl_2 a $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ tak, že výsledný objem (1 ml) obsahoval 0,05 % glutaraldehydu (v/o), 0,02 mM CaCl_2 a 0,02 mM $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$. Směs jsme inkubovali 1 hodinu při pokojové teplotě v temnu a pak navrstvili na kolonu Sephacrylu S-300 (Pharmacia, 2x30 cm) v 0,05M Tris-HCl pufru, pH 7,5 s přísadou 0,15 M NaCl, 1 mM MgCl_2 a 0,02 % (v/o) azidu sodného. Kolonu jsme pak tímto pufrem eluovali rychlostí 15 ml/hod. Aktivitu pyrofosfatasy jsme v eluátu měřili metodou, kterou popsali B a y k o v a A v a e v a (1981), a získali konjugované IgG s 25 % původní enzymatické aktivity. Frakce konjugovaných protilátek jsme získali měřením aktivity enzymu a odběrem těch, které měly dvojnásobnou molekulární hmotnost než volný enzym. Celkem jsme získali 18 ml protilátky BWYV konjugované anorganickou pyrofosfatasou s aktivitou 7 IU/ml.

Postup imunoenzymatického testu

Polystyrénové mikrotitrační desky (Dynatech) jsme potáhli IgG BWYV. Do jamek jsme pipetovali 0,2 ml IgG ředěných v 0,01M Tris-HCl pufru, pH 9,0, obsahující 0,15 M NaCl a inkubovali 18 hodin při 4 °C. Po odstranění roztoku jsme přidali 0,25 ml téhož pufru, obsahujícího kromě NaCl ještě 0,1 % polyvinylpyrrolidonu (PVP), m.h. 24000, a inkubovali 30 minut při 37 °C. Desky jsme promyli třikrát 0,01M Tris-HCl pufrem, pH 7,5, obsahujícím 0,15 M NaCl, 0,1 % PVP a 0,1 % Tween 20 (promývací pufr). Do jamek jsme napipetovali po 0,2 ml antigenu ředěného v promývacím pufru a inkubovali 18 hodin při 4 °C. Desky jsme promyli třikrát promývacím pufrem a pipetovali IgG BWYV konjugované anorganickou pyrofosfatasou. Po inkubaci konjugovaných proti-

látek (1 hodinu při 37 °C) jsme desky promyli třikrát promývacím pufrem a jednou destilovanou vodou. Do jamek jsme napipetovali 0,2 ml substrátu a inkubovali 1 hodinu při pokojové teplotě.

Složení substrátu: 0,03 mM pyrofosfátu sodného ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$) v 0,05M Tris-HCl pufru, pH 9,0, obsahující 5mM MgSO_4 a 0,5% Tween 20. Barevnou reakci jsme vyvolali a zastavili pomocí specifického reagens (5 ml koncentrované H_2SO_4 a 40 mg malachitové zeleně se promíchá ve 30 ml destilované vody, poté se přidá 100 mg molybdenanu sodného a promíchá s 5 ml připraveného roztoku) za 15 minut po přidání 0,05 ml specifického reagens do každé jamky. Výsledky testu jsme vyhodnotili při 620 nm na fotometru (fy Dynatech).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Pro diagnózu BWYV systémem ELISA s protilátkami konjugovanými anorganickou pyrofosfatasou jsme stanovili optimální koncentraci 1 g/ml IgG BWYV pro potažení mikrotitračních desek a optimální aktivitu anorganické pyrofosfatasy 0,5 IU/ml konjugovaných protilátek (konjugované protilátky 7 IU/ml ředěné 1:15 promývacím pufrem). Použitím systému ELISA s optimální koncentrací IgG pro potažení mikrotitračních desek a IgG konjugovaných anorganickou pyrofosfatasou ke stanovení BWYV v různých druzích přirozeně i uměle virem infikovaných rostlin jsme dosáhli spolehlivé a specifické výsledky. Vzorky z nemocných rostlin reagovaly intenzívně jasně modrozeleným zbarvením, zatímco vzorky ze zdravých rostlin slabým žlutým zbarvením. Přitom nebyly rozdíly v absorpci mezi kontrolními vzorky obsahujícími pouze pufr pro ředění vzorků a vzorky obsahujícími šťávu ze zdravých rostlin. Hodnoty absorpce se pohybovaly mezi 0,01 až 0,08, což znamená, že tento systém ELISA se vyznačuje prakticky nulovým pozadím. ELISA s protilátkami je citlivá na přítomnost fosfátů, které zvyšují pozadí. Tuto skutečnost jsme ověřili použitím desky s protilátkami IgG BWYV připravené pro ELISA s protilátkami konjugovanými alkalickou fosfatasou, kterou jsme promyli PBS pufrem, navázali vzorky ředěné 0,05M Tris-HCl pufrem s přísadou 0,5 % hovězího sérového albuminu, desky promyli Tris-HCl promývacím pufrem pro ELISA s pyrofosfatasou a navázali protilátky konjugované pyrofosfatasou. U všech zdravých vzorků včetně kontroly s pufrem jsme naměřili hodnotu pozadí 0,30 až 0,35.

Při ověřování diagnostické hodnoty testu jsme u pozitivních kontrol BWYV (šťáva z nemocných rostlin *Sinapis alba* L.) naměřili většinou hodnoty absorpce vyšší než 1,0. Hodnoty absorpce vzorků nemocných rostlin *Physalis floridana* se pohybovaly kolem 0,5 a vzorků infikovaných rostlin řepy bez viditelných

příznaků žloutnutí dosahovaly 0,4. Všechny tyto rostliny byly pěstovány ve skleníku.

Testováním vzorků listů řepy cukrové s příznaky různých typů žloutnutí z pole jsme BWYV prokázali v sedmi vzorcích z 22 testovaných. Hodnoty absorbce se pohybovaly mezi 0,3 a 1,1. Přítomnost viru nebyla stanovena ve vzorcích s příznaky mírného žloutnutí, bez zesíleného turgoru listového pletiva, ve vzorcích s příznaky žluté skvrnitosti typu světlého žloutnutí. Virus západní žloutenky řepy nebyl prokázán ve vzorku s příznaky viru žloutenky řepy (BYV). Ve vzorcích s typickými příznaky obou virů (BWYV a BYV) byl stanoven BWYV.

U rostlin řepky olejky a rostlin některých dvou a víceletých plevelů podezřelých v jarním období (duben) z infekce virem západní žloutenky řepy jsme pomocí ELISA s protilátkami BWYV konjugovanými anorganickou pyrofosfátou prokázali přítomnost viru v některých vzorcích. Nejstarší (spodní) listy všech testovaných rostlin měly příznaky fialovnění okrajů, kombinované se žloutnutím, v některých případech i červenáním rubu listů.

BWYV jsme pomocí ELISA prokázali v pěti rostlinách řepky olejky ze třinácti testovaných, ve dvou rostlinách pcháče osetu z pěti testovaných a dále vždy v jedné rostlině rozrazilu rolního, rozrazilu břechtanolistého, starčku obecného a vesnovky obecné ze dvou testovaných. Při použití protilátek BWYV konjugovaných alkalickou fosfátou jsme dosáhli shodné výsledky, i když v hodnotách absorbce byly u jednotlivých vzorků rozdíly.

Hodnoty absorbce vzorků rostlin, v nichž nebyl BWYV pomocí protilátek konjugovaných anorganickou pyrofosfátou zjištěn, se pohybovaly od 0,01 do 0,05. Hodnoty absorbce vzorků rostlin s pozitivní reakcí se pohybovaly od 0,27 do maximální měřitelné hodnoty 2,53. Vysoké hodnoty absorbce (1,5) byly naměřeny u některých vzorků řepky olejky, rozrazilu a vesnovky.

Uvedenými výsledky jsme prokázali diagnostické uplatnění protilátek konjugovaných anorganickou pyrofosfátou. Pomocí ELISA jsme tímto systémem stanovili virus západní žloutenky řepy v přirozeně infikovaných rostlinách řepy cukrové, řepky olejky a v některých druzích dvou a víceletých plevelů.

Na základě dosažených výsledků stanovení BWYV v přirozeně infikovaných rostlinách i stanovení dalších rostlinných virů (M i z e n i n a et al., 1991) v purifikovaných preparátech předpokládáme širokou možnost využití systému ELISA s protilátkami konjugovanými anorganickou pyrofosfátou v diagnostice rostlinných virů patřících do různých taxonomických skupin. Jednodušší příprava enzymu ve srovnání s dosud používanými, jeho vysoká stabilita, i stabilita připravených konjugátů vytvářejí možnost využití pro rutinní testování šlechtitelských a jiných rostlinných materiálů. Širšímu využití anorganické pyrofosfatasy v diagnostice rostlinných materiálů zatím brání komerční nedostupnost tohoto enzymu a

obtížná komerční dostupnost diagnostických souprav na bázi anorganické pyrofosfatasy.

Poděkování

Za technickou spolupráci při provádění pokusů vyslovujeme poděkování paní Jitce Pívalové.

Literatura

ATABEKOV, J. G. - AVAEVA, S. M. - BAYKOV, A. A. - KULINICH, A. V. - MIZENINA, O. A.: Method of heterogenous enzyme immunoassay of antibodies. Otkritija, Izobret., 41, 1987, s. 257.

BAYKOV, A. A. - AVAEVA, S. M.: A simple and sensitive apparatus for continuous monitoring of orthophosphate in the presence of acid-labile compounds. Anal. Biochem., 116, 1981, s. 1-4.

BAYKOV, A. A. - KASHO, V. N. - AVAEVA, S. M.: Inorganic pyrophosphatase as a label in heterogenous enzyme immunoassay. Anal. Biochem., 171, 1988, s. 271-276.

BRADFORD, M.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem., 72, 1976, s. 248-256.

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.

MIZENINA, O. A. - BORISOVA, O. V. - JEVTUŠENKO, O. A. - BAYKOV, A. A. - NOVIKOV, V. K.: Primenenie neorganičeskoj pyrofosfatasy *Escherichia coli* v kačestve markornogo fermenta pri diagnostike rastitelných virusov metodom immunofermentnoho analiza. Biol. Nauki, 2, 1991, s. 39-46.

OELLERICH, M.: Principles of enzyme-immunoassay. In: BERGMAYER, H. U. - BERGMAYER, J. - GRASSL, M. (Eds): Methods of enzymatic analysis. Vol. 1., Weinheim. Deerfield Beach, Florida, Basel, Verlag Chemie 1983, s. 233-260.

POLÁK, J. - KRÍSTEK, J.: Use of horseradish-peroxidase labelled antibodies in ELISA for plant virus detection. J. Phytopath., 122, 1988, s. 200-207.

Došlo dne 15.5.1991

J. Polák, O. A. Jevtušenko (Research Institute for Crop Production, Praha-Ruzyně; Czechoslovakia; Moscow State University, Moscow)

The detection of beet western yellows virus using antibodies conjugated with inorganic pyrophosphatase in ELISA

The objective of our research was to verify diagnostic possibilities of ELISA with antibodies conjugated with inorganic pyrophosphatase in naturally infected plants. For conjugation immunoglobulins (IgG) of beet western yellows virus (BWYV) were used. For the determination of BWYV by ELISA plants of *Sinapis alba* L. and *Physalis floridana* Rydb., inoculated with the virus by aphids were used. For the detection of BWYV using specific IgG conjugated with inorganic pyrophosphatase samples of sugar beet leaves with various

symptoms of yellowing were applied. Detection was carried out in autumn. Samples originated from various regions of the CSFR. In spring we tested samples of winter rape and some weeds with symptoms of violetting and yellowing of bottom leaves for the presence of BWYV.

For BWYV determination specific IgG prepared in the laboratory of virology at Prague-Ruzyně were used. IgG fractions were prepared by procedure described by P o l á k and K ř í s t e k (1988). IgG concentration was adjusted to 1 mg/ml using extinction coefficient after B r a d f o r d (1976). IgG conjugation with inorganic pyrophosphatase was done by glutaraldehyde method after B a y k o v et al. (1988) in the laboratory of molecular virology at Moscow.

In the immunoenzymatic test 0.01M Tris-HCl buffer pH 9.0 was used for dilution of IgG BWYV and 0.01M Tris-HCl buffer pH 7.5 for washing of plates and dilution of both, antigens and conjugates. Samples were diluted with washing buffer in ratio 1 to 5 (w/v). Results of ELISA were evaluated using photometer (Dynatech) at 630 nm. BWYV was determined using ELISA with inorganic pyrophosphatase. Optimal concentration of BWYV IgG was 1 g/ml for coating of plates, optimal concentration of conjugated antibodies showed activity 0.5 IU/ml of inorganic pyrophosphatase. With these antibodies reliable and specific results have been obtained in BWYV determination in various species of artificially and naturally infected plants. Absorbance values of healthy plants and homogenizing buffer reached 0.01 up to 0.08. Absorbance values of samples of diseased plants varied between 0.3 and 2.5.

BWYV was determined in artificially infected plants *Sinapis alba* and *Physalis floridana* and in naturally infected plants of sugar beet, winter rape, *Cirsium arvense*, *Veronica arvense*, *Veronica hederifolia*, *Senecio vulgaris* and *Cardaria draba*. On the basis of results achieved in naturally infected plants we presume a broad possibility for application of ELISA system with antibodies conjugated by inorganic pyrophosphatase in the diagnosis of plant viruses of various taxonomic groups.

A more simple procedure for the enzyme preparation compared with the procedures up to this time, high stability of inorganic pyrophosphatase, as well as stability of the prepared conjugates offers a possibility for the use of routine tests of plant breeding material and other plant materials. A broad application of inorganic pyrophosphatase in the detection of plant viruses is hitherto hindered by commercial inaccessibility of this enzyme and by difficult commercial accessibility of diagnostic kits based on inorganic pyrophosphatase.

beet western yellows virus; ELISA; inorganic pyrophosphatase; sugar beet; winter rape; overwintering weeds

Recenze

VIROLOGIE MOLÉCULAIRE

Molekulární virologie

M. Girard a L. Hirt ve spolupráci s G. Lebeurierem a J. Witzem

1989 Doin Edit. ISBN 2 - 7040-0585-0 Paris, 617 s. Cena 310 F

Kniha v 11 kapitolách podává vyčerpávajícím a přitom výstižným způsobem nejnovější informace v oblasti molekulární virologie. V úvodu renomovaný autorský kolektiv z Pasteurova ústavu v Paříži a z Ústavu molekulární biologie ve Strasburku definují fenomen viru a jeho chemické složení, ribo- a deoxy-ribonukleové kyseliny viru, jejich strukturu, chemické zvláštnosti a jejich lokalizaci. K této části je připojena pasáž o proteinech virionů, kapsidě proteinu, vnitřních proteinech a enzymatických proteinech, spojených s virovými částicemi.

Další kapitola informuje o způsobech purifikace virů, vychází z vhodné volby hostitele pro reprodukci viru a jeho získání z buněčných extraktů. Jsou popsány metody oddělení virů odstředěním při různé hodnotě g , denaturace virů teplotou a užitím organických rozpouštědel. Z dalších způsobů izolace viru jsou uvedeny metody jeho precipitace vysolením, v izoelektrických bodech a polyethylenglykolem, filtrace gelem, chromatografií a ultracentrifugací. Z fyzikálně-chemických metod je pozornost zaměřena na elektronovou mikroskopii s různou přípravou preparátů, včetně jejich kontrastování, dále je popsána metoda imunoelektronové mikroskopie (ISEM) a metoda dovolující vizulaci nukleových kyselin. Z dalších fyzikálních metod autoři uvádějí difrakci X-paprsky, neutrony, difrakci optickou, elektroforézu zonální, sloupcovou a v gelu, dále pak elektro-fokuzaci a zonální ultracentrifugaci.

Samostatná část pojednává o principech a technice molekulární hybridizace rostlinných a živočišných virů a bakteriofágů. Dále autoři knihy uvádějí techniku buněčných kultur, jejich kultivaci, způsoby pasážování virů v rostlinách, metodou lokálních lézí a systémové infekce. Značnou pozornost věnovali antigenům virů a jejich protilátkám i jejich přípravě, různým způsobům sérologické reakce, precipitace v gelu, imunoelktorforézy, vazby komplementu, hemoaglutinaci, použití značkových antigenů a protilátek izotypy a sérologické metodě neutralizace infekčnosti viru.

Třetí kapitola pojednává o stavbě a složení viru, proteinů a kapsidy. Je zde také uvedena teorie Caspara a Klugeho o konstrukci izometrických kapsidů a některé příklady organizace izometrických nukleoproteidů. Ve čtvrté kapitole je uvedena klasifikace a názvosloví virů, pátá kapitola je zaměřena na interakce mezi virem a buňkou a šestá pak na adsorpci a penetraci viru. Autoři podrobně analyzovali a zaujali kritický postoj k výzkumu procesu lyzogenie a transformace nádorů se zřetelem na profágy a proviry, uvádějí různé viry, které se podílejí na vyvolání rakoviny u lidí a živočichů.

Závěrečná kapitola je věnována interakcím mezi virem a organismem, popisu některých virových onemocnění a poukazuje na reálné možnosti obrany organismu před virem. Tato část obsahuje i možnosti přenosu virů prostřednictvím zvířat, rostlin (semeny, pylém), hmyzími a jinými vektory. Nechybí zde ani preventivní metody pro potlačení virové infekce.

Publikace reprezentuje soubor nejnovějších synteticky zpracovaných poznatků z obecné humánní a rostlinné molekulární virologie a bude jistě vítaným příspěvkem pro výzkumná pracoviště a vysoké školy universitního i technického směru. Dává čtenářům ucelený moderní pohled na současný stav experimentálně doložených poznatků v této vědní disciplíně.

Ing. Jiří Chod, CSc.

ÚČINNOST FUNGICIDŮ NA *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* (LIB) DE BARY A *TRICHODERMA* T₇ IN VITRO

Bohumila VOŽENÍLKOVÁ

Vysoká škola zemědělská, 370 05 České Budějovice

V laboratorních podmínkách byla v roce 1989 zjišťována citlivost hub *Sclerotinia sclerotiorum* a *Trichoderma* T₇ k fungicidům (Previcur N a Fundazol 50 WP) metodou otrávených ploten. Tato metoda umožňuje sledování růstu mycelia a vývoj sklerocií v závislosti na koncentraci fungicidních přípravků. Testace fungicidů vůči půdním patogenům *Sclerotinia sclerotiorum* a *Trichoderma* T₇ v podmínkách *in vitro* vyšla ve prospěch Fundazolu 50 WP. Rovněž se projevila větší agresivita houby *Trichoderma* T₇ v porovnání s houbou *Sclerotinia sclerotiorum*, která se uplatnila rychlým růstem mycelia na Petriho miskách.

Sclerotinia sclerotiorum (Lib) de Bary; *Trichoderma* T₇; propamocarb; benomyl; účinnost

Houba *Sclerotinia sclerotiorum* je kosmopolitním druhem, vyskytuje se na všech kontinentech a může se objevit prakticky v každé zemi. Napadá plané, plevelné i kulturní rostliny nejrůznějších čeledí. Nejvíce postižena je čeleď hvězdčicovitých (Asteraceae), u které je touto chorobou ohroženo 39 rodů a 62 druhů (P u r d y , 1979). U okurek tvoří houba na stoncích bledé vodnaté skvrny, za vlhka pokryté hustým bílým myceliem, na kterém se formují nejprve bílá a později černající sklerocia. Při tomto stadiu choroba způsobuje vadnutí rostlin (B r ü c k n e r , 1961). Po kontaktu hostitele s parazitem dochází k vyvolání nekrotrofního vztahu, a to buď přímou penetrací intaktním hostitelským povrchem, přirozenými otvory, nebo poraněním. Penetrace a následná degradace hostitelských pletiv je podporována činností extracelulárních enzymů (K ů d e l a , 1989).

Antagonistické houby rodu *Trichoderma* se vyskytují zejména v půdě jako běžná součást půdní mikroflóry a pro praktické využití jsou významné produkty metabolismu těchto hub. Tyto metabolity působí nejúčinněji na houby, méně na bakterie a aktinomycety. Některé produkty metabolismu působí stimulačně na rostliny, zvětšují látkovou výměnu a zvyšují výnosový efekt (S e j k e - t o v , 1982).

Na základě uvedených poznatků jsme si v našem sledování vytkli za cíl:

1. Zjistit citlivost hub *Sclerotinia sclerotiorum* a *Trichoderma* T₇ k běžně používaným fungicidům Previcur N a Fundazol 50 WP u skleníkových okurek.

2. Možnost využití kombinace fungicidů (Previcur N a Fundazol 50 WP) a hubu rodu *Trichoderma* vůči bílé hnilobě okurek (*Sclerotinia sclerotiorum*).

MATERIÁL a METODY

Sklerocia houby *Sclerotinia sclerotiorum*, pocházející z lokality ZD Vodňany (hostitelská rostlina - skleníková okurka, odrůda Sandra), jsme nejdříve dva měsíce kultivovali na pevné živné půdě - 2% bramboro-glukózový agar (dále BGA) v termostatu při teplotě +20 °C, abychom si zajistili dostatek infekčního materiálu. Rovněž houba *Trichoderma* T7 (původ VŠZ AF, katedra ochrany rostlin v Praze) byla v časovém předstihu izolována na BGA.

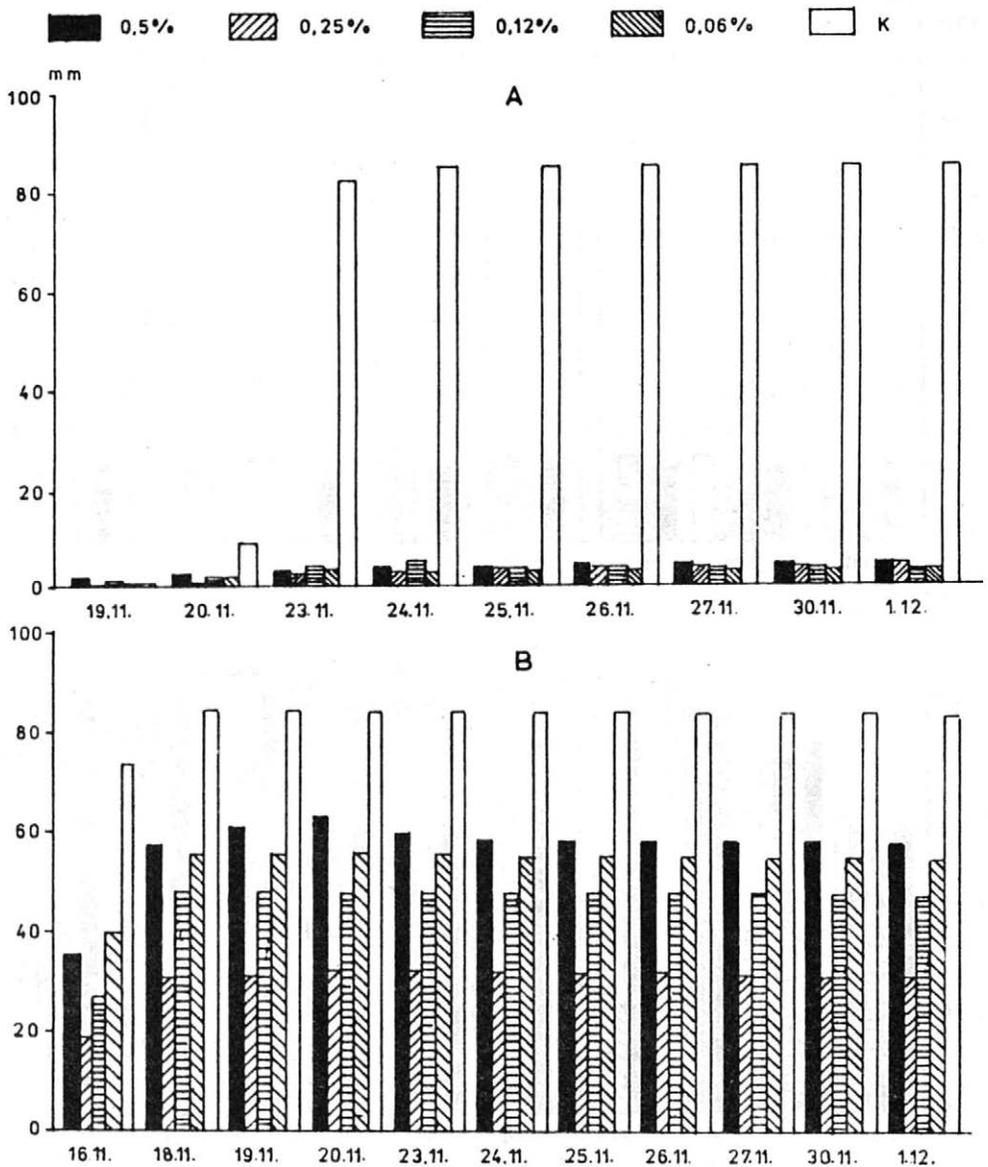
Pro posouzení fungicidní účinnosti přípravků Fundazol 50 WP (605 g na 1 l propamocarbu) a Previcur N (benomyl-50) vůči houbám *Sclerotinia sclerotiorum* a *Trichoderma* T7 v podmínkách *in vitro* jsme zvolili metodu, kterou vypracovali Z v á r a , T á b o r s k ý (1985). Použitou laboratorní metodu jsme upravili pro naše podmínky.

Vlastní fungicidní test probíhal v plastických Petriho miskách o průměru 85 mm, do nichž bylo sterilní pipetou odměřeno vždy 1,5 ml příslušného roztoku fungicidního přípravku. Přípravky byly aplikovány v koncentracích 0,5; 0,25; 0,125; 0,0625% v osmi opakováních a jako kontrola byla použita destilovaná voda.

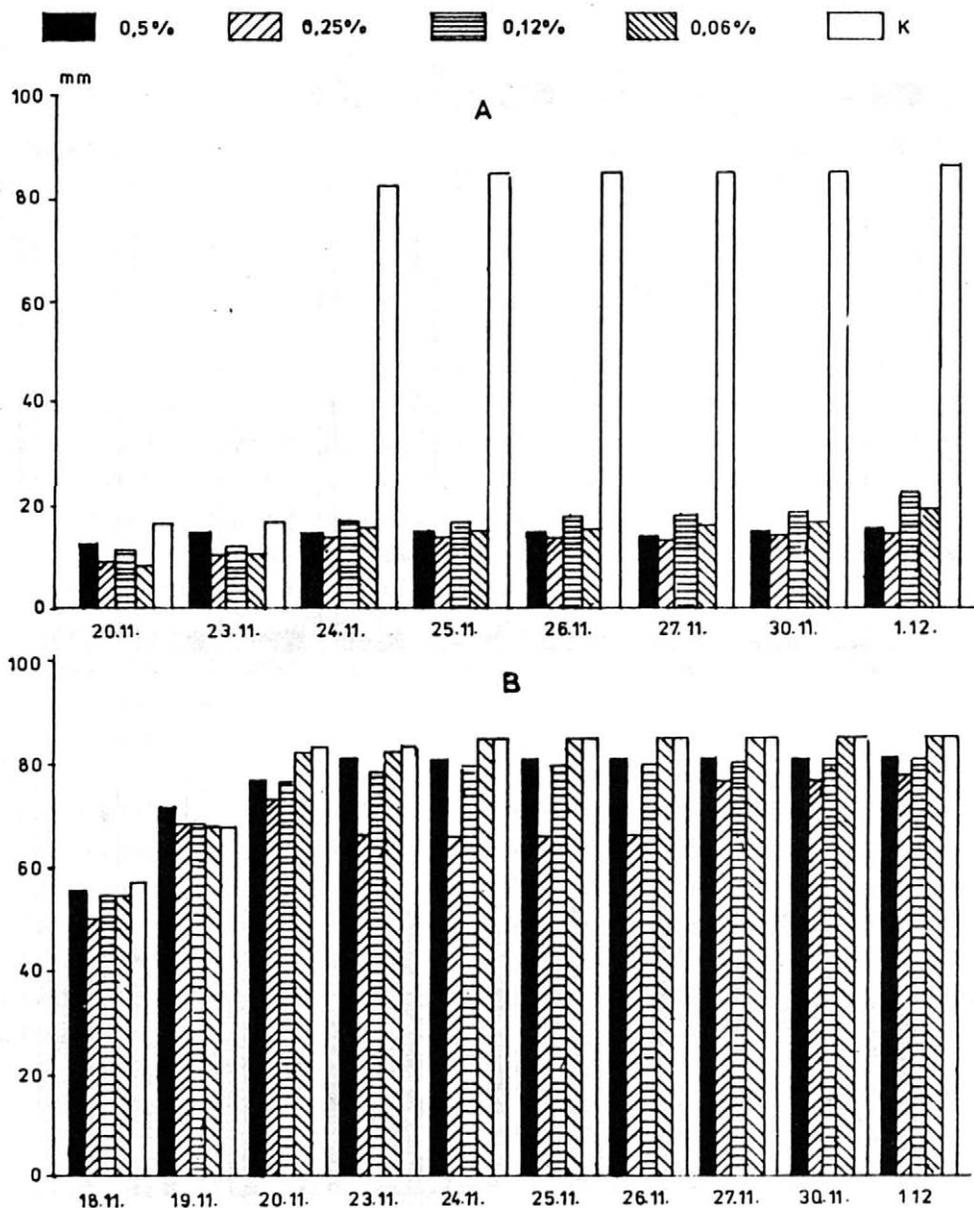
V kontrolních variantách bylo použito stejné množství destilované vody (1,5 ml). Tyto aplikované terčiky byly zality 13,5 ml agarového živného substrátu (BGA) o teplotě 45 °C. Na ztuhlou agarovou půdu byla ve sterilním prostředí naočkována houba *Sclerotinia sclerotiorum* (sklerocia) a *Trichoderma* T7 (mycelium) a kultivována v termostatu při +20 °C. Kontrola agarových ploten byla zahájena druhý den po inokulaci a denně se měřil radiální růst mycelia (v mm) a sledovalo se jakým způsobem jednotlivé přípravky brzdí růst a vývoj celé kultury. Účinek fungicidů se hodnotil 5., 10. a 15. den od zahájení pokusu.

VÝSLEDKY a DISKUSE

Z výsledků dosažených ve fungicidním testu vidíme zřetelný účinek použitého přípravku Fundazol 50 WP v porovnání s kontrolní variantou, kde mycelium *Sclerotinia sclerotiorum* porostlo celou agarovou plotnu za 10 dní od doby inokulace a houba *Trichoderma* T7 za šest dní (obr. 1 a 2). Z naměřených hodnot, vyjádřených graficky, můžeme vyvodit, že inhibice použitého fungicidu se začala projevovat od pátého dne růstu mycelia. Nejzřetelnější účinek byl zaznamenán u houby *Sclerotinia sclerotiorum*, kde růst mycelia (Fundazol 50 WP ve všech



1. Dynamika růstu *Sclerotinia sclerotiorum* za působení fungicidů Fundazol 50 WP (A) a Previcur N (B) - Growth-dynamics of fungus *Sclerotinia sclerotiorum* in the presence of fungicide Fundazol 50 WP (A) and Previcur N (B)



2. Dynamika růstu *Trichoderma* T₇ za působení fungicidu Fundazol 50 WP (A) a Previcur N (B) - Growth-dynamics of fungus *Trichoderma* T₇ in the presence of fungicide Fundazol 50 WP (A) and Previcur N (B)

čtyřech koncentracích) byl potlačen již pátý den po inokulaci (obr. 1). Aplikací Benlate (úč. I. benomyl) vůči *Sclerotinia sclerotiorum* se zabýval ve svých pokusech rovněž velice úspěšně F o r s t e r (1981). Rovněž u dalšího sledovaného patogena (*Trichoderma* T7) byl patrný inhibiční tlak testovaného Fundazolu 50 WP, a to u koncentrace 0,5 a 0,25 %, pátý den po inokulaci. V Petriho miskách, kde byl aplikován Fundazol 50 WP, porostla houba *Trichoderma* T7 pouze 19 % plochy, *Sclerotinia sclerotiorum* 57,3 % plochy a tvořila se černě vybarvená sklerocia.

Z daného pokusu je vidět účinnost testovaného fungicidu Fundazol 50 WP proti půdním patogenům *Sclerotinia sclerotiorum* a *Trichoderma* T7. Ve všech uvedených grafech (obr. 1 a 2) se jedná o znázornění růstu a vývoje mycelia houby *Sclerotinia sclerotiorum* a *Trichoderma* T7 v jednotlivých opakováních, kde je uvedena průměrná hodnota z každé varianty.

V pokusech *in vitro* se rovněž uplatnila větší agresivita houby *Trichoderma* T7 v porovnání s houbou *Sclerotinia sclerotiorum*, a to rychlým růstem mycelia na Petriho miskách (obr. 1 a 2). Reakce *Trichoderma* - patogen (*Sclerotinia sclerotiorum*) na živných půdách sledovala P r o k i n o v á (1986) a zaznamenala výraznou antagonistickou aktivitu mezi kmeny *Trichoderma*. Rovněž naše sledování uskutečněná v letech 1987 až 1988 (Z v á r a et al., 1989) potvrdila účinnost bioagens *Trichoderma* T7 vůči houbě *Sclerotinia sclerotiorum*. Kombinace fungicidů (Fundazol 50 WP - úč. I. benomyl) a hub *Trichoderma* (*Trichoderma* T7) by bylo možné výhledově použít v ochraně skleníkových okurek vůči patogenní houbě *Sclerotinia sclerotiorum*.

L i t e r a t u r a

- BRÜCKNER, F.: Hlízenka obecná - *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary. In: Zemědělská fytopatologie. díl III, Praha, ČSAZV v SZN 1961, s. 401.
- FORSTER, R. L.: Control of white mold of beans with benlate fungicide via sprinkler irrigation. *Phytopathology*, 71, 1981, s. 874.
- KÚDELA, V. a kol.: Obecná fytopatologie. Praha, Academia 1989, s. 73.
- PROKINOVÁ, E.: Studium možností využití hub rodu *Trichoderma* v ochraně skleníkových plodin proti houbovým kořenovým chorobám. [Kandidátská disertace.] Praha, 1986. - Vysoká škola zemědělská.
- PURDY, L. H.: *Sclerotinia sclerotiorum*: History, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact. *Phytopathology*, 69, 1979, s. 875-880.
- SEJKETOV, G. Š.: Griby rodu *Trichoderma* i ich ispolzovanie v praktike. Alma-Ata, Nauka 1982.
- ZVÁRA, J. - TÁBORSKÝ, V.: Cvičení z ochrany rostlin I. (Zemědělská fytopatologie). Praha, VŠZ MON 1985, s. 137.
- ZVÁRA, J. - VOŽENÍLKOVÁ, B. - LHOTSÝ, B.: Studium metod ochrany proti klíčovým chorobám v programech integrované ochrany skleníkových plodin. [Dílčí zpráva.] VŠZ AF České Budějovice, 1989.

B. Vožentlková (University of Agriculture, České Budějovice, Czechoslovakia)

The fungicides inhibiting on *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary and *Trichoderma* T7 in vitro

The effect of fungicides (Previcur N and Fundazol 50 WP) on fungi *Sclerotinia sclerotiorum* and *Trichoderma* T7 was tested in the laboratory using the method of poisoned dishes. This method allows for the following of growth of mycelium and the evolution of sclerotia which depend on the fungicide concentration. The fungicide Fundazol 50 WP was more successful in the test in laboratory conditions.

The results of the fungicide test reveal the very clear influence of the preparation mixture Fundazol 50 WP in comparison with the control test where mycelium *Sclerotinia sclerotiorum* had grown on the whole agar plate within ten days of inoculation and the fungus *Trichoderma* T7 within six days (Figs. 1 and 2). The measured values in the graph show that the fungicide used stops the mycelium growth by the fifth day. The most remarkable effect was that of the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* where the growth of mycelium (Fundazol 50 WP) was reduced in all four concentrations as early as the fifth day after inoculation (Fig. 1). We also observed the growth-inhibiting effect of the fungicide Fundazol 50 WP on the pathogen *Trichoderma* T7, unmistakable at concentrations of 0.5 - 0.25 % by the fifth day after inoculation. In the Petri dishes where Fundazol 50 WP was used the fungus *Trichoderma* T7 grew only on 19.1 % of the surface, the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* 4.26 % and the sclerotia didn't grow at all. In the Petri dishes where Previcur N was used the fungus *Trichoderma* T7 grew on 95.5 % of the surface and *Sclerotinia sclerotiorum* on 57.3 %, and the sclerotia formed in black color. From this experiment we can see they Growth-inhibiting effects of the tested fungicide Fundazol 50 WP on soil pathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Trichoderma* T7. The experiment shows also the high agressivity of fungus *Trichoderma* T7 in comparison with the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* which was revealed in the rapid growth of mycelia in the Petri-dishes.

Sclerotinia sclerotiorum (Lib) de Bary; *Trichoderma* T7; propamocarbe; benomyle; inhibition

VÝSKYT VÍRUSU ŽLTEJ NEKROTICKEJ ŽILKOVITOSTI REPY NA SLOVENSKU

Valéria ŠUBÍKOVÁ, Vít BOJŇANSKÝ, Helena BAUMGARTNEROVÁ

Ústav experimentálnej fytopatológie a entomológie SAV, 900 28 Ivanka pri Dunaji

V roku 1990 sme v deviatich oblastiach pestovania cukrovej repy na Slovensku dokázali výskyt vírusu žltej nekrotickej žilkovitosti repy (beet necrotic yellow vein virus - BNYYV). Vírus spôsoboval na bufvách repy typické príznaky rizománie a bol identifikovaný na základe reakcie hostiteľských rastlín, elektrónovej mikroskopie a sérologie.

rizománia repy; vírus nekrotickej žilkovitosti repy

Ochorenie bolo po prvý krát opísané v Taliansku (C a n o v a , 1966). Prvý opis pôvodcu tohto ochorenia - vírus nekrotickej žilkovitosti repy publikovali v Japonsku (T a m a d a et al., 1971). Odvtedy toto ochorenie i jeho pôvodca boli postupne opisované v mnohých ďalších štátoch sveta (T a m a d a , 1975; P u t z , 1977; D u f f u s et al., 1984).

U nás prvý dôkaz o výskyte vírusu žltej nekrotickej žilkovitosti repy publikovali v roku 1983 N o v á k a L a n z o v á (1983). Prvý opis tejto choroby u nás však podľa uvedených autorov možno datovať od roku 1977. Sporadický výskyt ochorenia opísali N o v á k a Ř i m s a (1985), neskôr Chod so spolupracovníkmi (C h o d et al., 1986). Rozsiahly prieskum tohto ochorenia, ako i vektora vírusu, huby *Polymyxa betae* Keskin v pestovateľských oblastiach repy v Čechách a na Morave, robili R y š á n e k a Ř i m s a (1989). Sérologicky, metódou ELISA sa im nepodarilo dokázať tento vírus v žiadnej z viac ako 120 testovaných vzoriek repy, i keď huba *P. betae* sa v nich vyskytovala vo viac ako v 60 %. V súvislosti s hojným výskytom tejto huby v pôdach našich repárskych oblastí sa však autori domnievajú, že výskyt rizománie u nás nemožno vylúčiť.

Na Slovensku sa dosiaľ s týmto ochorením experimentálne nepracovalo, napriek tomu, že sa jedná o veľmi významné ochorenie. Tieto skutočnosti, ako i vyššie uvedené údaje nás viedli k terénnemu prieskumu na možný výskyt rizománie v oblasti juhozápadného Slovenska na jeseň 1990.

MATERIÁL a METÓDY

Z poľných porastov alebo skládok cukrovej repy sa odobralo 23 vzoriek (minimálne päť z každej) s typickými alebo podozrivými príznakmi „bradatosti“ koreňov (obr. 1).



1. Typické príznaky rizománie na bufvách repy - Typical symptoms of abnormal root development (rhizomania) in beet

Biologické testovanie sa robilo na nasledovných indikátoroch: *Beta vulgaris* convar. *vulgaris* provar. *altissima* cv. Imona, *Chenopodium quinoa*, *Ch. amaranticolor*, *Gomphrena globosa* a *Spinacia oleracea*.

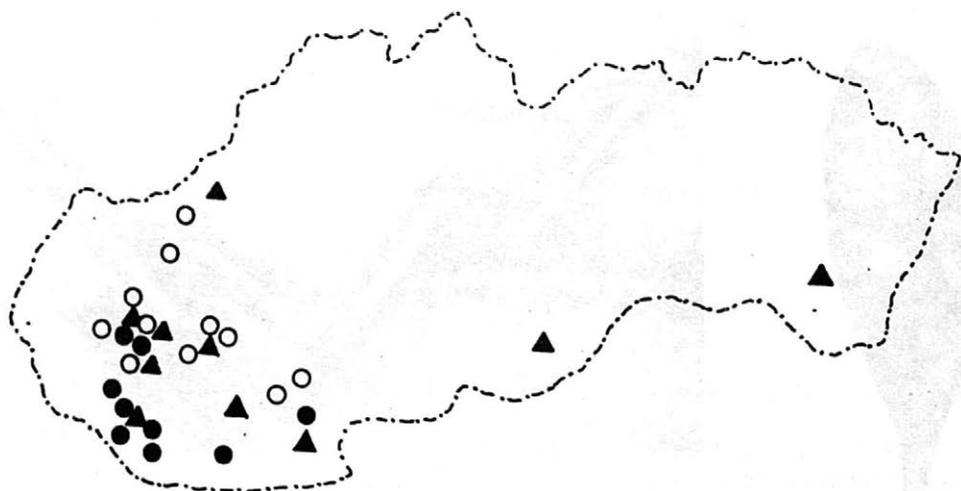
Na inokuláciu testovacích rastlín sa použil čiastočne purifikovaný koncentrát vírusu získaný z korenkov a spodnej časti koreňa repy, v niekoľkých prípadoch i z listov repy. Koncentrovanie vírusu sme robili modifikovaným postupom, ktorý opísal Putz (1977). Infikované tkanivo sme homogenizovali v 0,02M Tris-HCl (pH 8,0) alebo v 0,1M fosfátovom pufri (pH 7,0) obsahujúcim 1% 2-merkptoetanol v pomere 1:2. Po filtrácii homogenátu a nízkootáčkovej centrifugácii (10 minút pri 10 000 g) sme vírus precipitovali zo supernatantu 5% polyetylén glykolom (m. h. 6000) a 0,2M NaCl. Vyzrážaný vírus sme sedimentovali nízkootáčkovou centrifugáciou (30 minút pri 10 000 g), resuspendovali v 0,1M fosfátovom pufri (pH 7,0) a ďalej purifikovali opakovanou precipitáciou s polyetylén glykolom, alebo diferenciálnou centrifugáciou. Ultracentrifugácia sa robila jednu hodinu pri 106 500 g.

Sérologické vyšetrenia sme robili kvapkovým precipitačným testom. Anti-sérum k BNYVV nám poskytol Dr. Putz (INRA, Station de pathologie végétale, Colmar, Francúzsko). Reakcia sa odčítala po 30minútovej inkubácii.

Elektrónovou mikroskopiou sme vyšetřovali preparáty čiastočne koncentrovaného vírusu z koreňov i listov repy ako i extrakty z listov testovacích rastlín, na ktoré bol vírus prenesený mechanickou inokuláciou. Suspenzia sa nanášala na elektrónmikroskopické sieťky a negatívne kontrastovala 2% vodným roztokom uranyl acetátu. Preparáty sme pozorovali a fotografovali väčšinou pri zväčšení 40 000x na elektrónovom mikroskope Tesla BS 500.

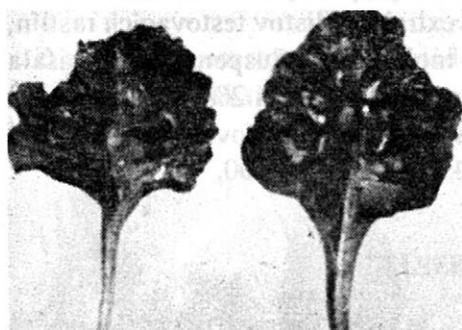
VÝSLEDKY a DISKUSIA

Z 23 testovaných vzoriek sme získali pozitívne výsledky (minimálne na dvoch indikátoroch) z porastov RD alebo ŠM, prípadne zo skládok (bez presnejšieho určenia pôvodu) lokalizovaných v týchto oblastiach: Nový Život, Orechová Pôtoň, Dolný Bar, Hroboňovo, Jurová (okr. Dunajská Streda), Abrahám (okr. Galanta), Cífer (okr. Trnava), Martovce (okr. Komárno), Želiezovce (okr. Levice). Negatívne výsledky (žiadne príznaky na indikátoroch, alebo nevýrazné príznaky na jednom indikátore) sme získali zo vzoriek pochádzajúcich z obvodu obcí Veľký Grob (okr. Bratislava-vidiek), Chtelnica, Budmerice, Malženice, Trebatice, Trnava, Boleráz (okr. Trnava), Zbehy, Sládečkovce (okr. Nitra),

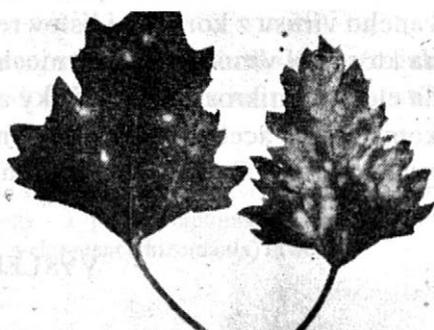


- výskyty potvrdené testovaním - localities where rhizomania disease was proved
- negatívne výsledky testovania - localities where negative results were obtained
- ▲ cukrovary- sugar-mills

2. Výskyt rizománie repy na juhozápadnom Slovensku v roku 1990 - Occurrence of sugar beet rhizomania disease in south-west Slovakia in 1990

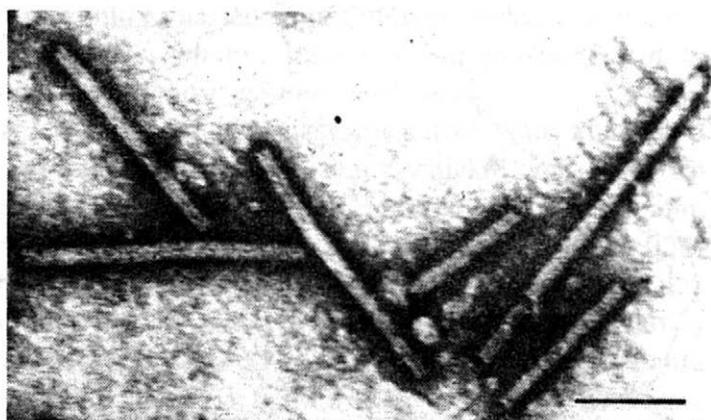


3. Príznaky infekcie na listoch repy cv. Imona - Systematically infected *Beta vulgaris* cv. Imona leaves



4. Príznaky infekcie na listoch *Chenopodium quinoa* - Local lesions in inoculated leaves of *Chenopodium quinoa*

5. Lokálne lézie na liste *Gomphrena globosa* - Local lesions in inoculated leaf of *Gomphrena globosa*



6. Častice vírusu žltej nekrotickej žilkovitosti repy negatívne kontrastované 2% uranylacetátom. Mierka = 100 nm - BNYVV particles negatively stained with 2% uranylacetate. Bar = 100 nm

Tekovské Lužany, Plavé Vozokany (okr. Levice) a Trenčianske Bohuslavice (okr. Trenčín). Výsledky sú znázornené na obr. 2.

Vírus žltej nekrotickej žilkovitosti repy indukoval nasledovné príznaky na testovacích rastlinách: systémová infekcia u repy cv. Imona (obr. 3) a u špenátu, lokálne lézie na listoch chenopodií (obr. 4) a gomfréne (obr. 5). Tieto pozitívne reakcie u deviatich vzoriek (z 23) sme potvrdili tiež sérologicky - pozitívnu sérologickou reakciou s antisérom proti BNYVV, ako i elektrónovou mikroskopiou (prítomnosť tyčinkovitých častíc vírusu štyroch predominantných dĺžok - obr. 6).

Urobený prieskum, odobranie a testovanie vzoriek s prejavmi rizománie („bradatost“ buliev) pri zbere a zvoze úrody cukrovej repy, ako aj pokles úrod a cukornatosti v celej oblasti juhozápadného Slovenska, nepochybne poukazujú na zamorenosť tejto oblasti vírusovou chorobou nazývanou rizománia. K zamoreniu tejto oblasti došlo zrejme už v osemdesiatych rokoch pravdepodobne veternou eróziou, prenosom pôdy vetrami zo zamoreného územia v Rakúsku a Maďarsku, kde sú výskyty tejto choroby známe už od začiatku osemdesiatych rokov (K r e x n e r, 1981; V i r á g, 1982).

Prevedený výskum nevymedzuje zamorenosť územia. Potenciálnosť výskytu i v ďalších častiach Slovenska je veľká a ochorenie môže v budúcich rokoch spôsobiť (v závislosti od poveternostných podmienok) ekonomicky významné škody. Preto je treba včas zabezpečiť ochranu a čím skoršie využívanie tolerantných odrôd.

Pod'akovanie

Autori ďakujú Dr. P u t z o v i za láskavé poskytnutie antiséra k BNYVV.

Literatúra

- CANOVA, A.: Recherche virologiche nella rizomania della bietola. *Annali (Accad. naz. Agric.)*, 78, 1966, s. 37-46.
- DUFFUS, J. E. - WHITNEY, E. D. - LARSEN, R. C. - LIU, H. Y. - LEWELLEN, R. T.: First report in western hemisphere of rhizomania of sugar beet caused by beet necrotic yellow vein virus. *Pl. Dis.*, 68, 1984, s. 251.
- CHOD, J. - KŮDELA, V. - JOKEŠ, M. - VINDUŠKA, L.: Výskyt virů žluté nekrotické žilkovitosti řepy jako původce rhizomanie řepy cukrové v ČSSR. *Listy cukrov.*, 102, 1986, s. 27-30.
- KREXNER, R.: Rizomania (Wurzelbärtigkeit), eine neue Rübenkrankheit. *Pflanzenarzt*, 34, 1981, s. 3-7.
- NOVÁK, J. B. - LANZOVÁ, J.: Sérologický důkaz nekrotické žloutenky žilek řepy na cukrovce v Československu. In: *Sbor. Ref. IX. čs. Konf. Ochr. Rostl.*, Brno, 1983, s. 253-254.
- NOVÁK, J. B. - ŘIMSA, V.: Rhizomanie cukrovky v Československu. *Úroda*, 33, 1985, s. 553-555.
- PUTZ, C.: Composition and structure of beet necrotic yellow vein virus. *J. gen. Virol.*, 35, 1977, s. 397-401.

- RYŠÁNEK, P. - ŘÍMSA, V.: Rozšíření houby *Polymyxa betae* Keskin (vektor viru žluté nekrotické žloutenky řepy) v řepářských oblastech Čech a Moravy. Plant Virology. Proc. 10th Conf. Czechoslov. Pl. Virol. Praha, 1989, s. 169-171.
- TAMADA, T. - ABE, H. - BABA, T.: A virus isolated from sugar beet showing „rhizomania” like symptoms and its transmission in soil. Bull. Sugar Beet Res. (Japan.), 13, 1971, s. 179-186.
- TAMADA, T.: Beet necrotic yellow vein virus. CMI/AAB. Description of plant viruses. 144, 1975.
- VIRÁG, J.: Rizománia, új betegség fenyegeti a cukorrépat. Magy. Mezőgazd., 37, 1982, s. 9.

Došlo dňa 6. 6. 1991

V. Šubíková, V. Bojňanský, H. Baumgartnerová
(Institute of Experimental Phytopathology and Entomology,
Slovak Academy of Sciences, Ivanka pri Dunaji, Czechoslovakia)

Occurrence of beet necrotic yellow vein virus in Slovakia

Rhizomania, one of the most serious diseases of sugar beet is caused by beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) whose vector is a soilborne fungus *Polymyxa betae* Keskin. The disease was described in many European and overseas countries. The occurrence of this disease mainly in Austria and Hungary, in our neighbouring countries, represented a great potential danger for sugar beet production areas in Slovakia. For this reason a number of sugar beet plants suspicious of the said disease from 23 localities (at least five plants from each) of the south-west part of Slovakia were tested during autumn 1990. The identification of beet necrotic yellow vein virus was based on the reactions of herbaceous test plants, on the electron microscopy and serology as well.

In host range studies *Beta vulgaris* convar. *vulgaris* provar. *altissima* cv. Imona, *Spinacia oleracea*, *Chenopodium quinoa*, *Ch. amaranticolor* and *Gomphrena globosa* were used. From leaves or roots (mostly with typical bearding symptoms - Fig. 1) concentrated extracts induced typical symptoms on diagnostic plants species. Systemic symptoms of infectivity on beet and spinach leaves and local lesions in inoculated leaves of *Gomphrena* and *Chenopodium* (Figs. 3 to 5) were observed.

Electron microscopy in negatively stained (using 2% aqueous uranyl acetate) dip preparations from infected test plant's leaves sap or concentrated root extracts revealed the presence of rod-shaped particles of four predominant lengths (Fig. 6).

In drop precipitin tests the virus reacted to antiserum prepared against the French isolate of beet necrotic yellow vein virus, kindly supplied by Dr. C. Putz. Reactions have also been obtained in agar-gel diffusion tests.

These results provide experimental evidence that beet necrotic yellow vein virus associated with rhizomania disease in sugar beet is spread at least in the south-west part of Slovakia in 9 from 23 localities tested.

The results carried out so far, however, does not exclude the possible infestation of this territory. The potentiality of incidence and detrimental effect of this disease is obvious and dangerous, and may in the coming years cause (dependent on climatic conditions) economically serious damages in sugar industry. In Bohemia the disease appeared only occasionally and the damage being insignificant (Novák, Lanzová, 1983; Novák, Římsa, 1985; Chod et al., 1986; Ryšánek, Římsa, 1989). This can be explained partly due to less favourable climatic conditions for *Polymyxa betae* - vector of the disease (lower summer temperatures compared with Slovakia), partly due to the fact that this area is greatly limited by massive mountainous lands extending from Germany and Austria, which may hold up soil blowing with infected spores of the *Polymyxa betae* fungus.

The results obtained are an important stimulus to provide an early and effective control against a further extension of this dangerous disease, notably by using tolerant sugar beet cultivars in the possible soonest time.

rhizomania disease; beet necrotic yellow vein virus

ŽIVOTNÍ JUBILEA

ŽIVOTNÉ JUBILEUM ING. VIERKY MOKREJ, CSc.

18. januára 1992 oslavila svoje guľaté životné jubileum Ing. Vierka Mokrá, CSc., vedúca vedecká pracovníčka Výzkumného ústavu okrasného zahradníctví v Průhoniciach. Uvedomujúc si túto skutočnosť, pokladám si za svoju povinnosť, ako jeden z najstarších žijúcich pracovníkov rastlinolekárstva, napísať pár slov pre náš časopis, v ktorom by som v mene celej rastlinolekárskej obce, i vo svojom mene, pozdravil našu vzácnu a milú kolegyňu.

Stredoškolské vzdelanie získala na jednom z pražských gymnázií v roku 1951. Hodnosť poľnohospodárskeho inženera s vyznamenaním získala v roku 1955 na Vysoké škole zemědělské v Prahe, a to v špecializácii pre ochranu rastlín. S vynikajúcim odporúčaním od prof. J. Smoláka nastúpila do Výzkumného ústavu okrasného zahradníctví v Průhoniciach. V roku 1957 získala možnosť externej aspiratúry na bývalom Biologickom ústave ČSAV. Špecia-

lizácia na vysokej škole a úspešná práca v rámci ašpiratúry znamenala pre ňu dobrý odraz do života. Kandidátsku dizertačnú prácu v oblasti biologických vied „Príspevek k identifikácii viróz primulí“ obhájila v roku 1961.

Po antraknóze hrachu (to bola jej diplomová práca) a virózami prvoseniek sa na ústave v Průhoniciach venovala hlavne vírusovým chorobám pomerne širokej palety okrasných rastlín (tulipánov, chryzantém, mečíkov, klinčekov, hyacintov, narcisov, orchidejí, frízií, ľalijí, muškátov, gerberí, georgín, hortenzí, limoniek, viacerých druhov okrasných drevín). Čas svojej práce venovala i výskumu viroidných chorôb, najmä pri chryzantémach, klinčekov a muškátoch. Len z tejto oblasti uvádza Bibliografia prác československých rastlinných virológov 1921 - 1970 a 1971 - 1988 celkom 122 prác vedeckého a vedeckopopularizačného charakteru, z ktorých je 16 publikovaných v niektorom zo svetových jazykov a 8 vyšlo v popredných zahraničných vedeckých časopisoch a zborníkoch. Nemám prehľad o množstve prác z mykológie, je ich určite podstatne menej, ale významne dopĺňujú pracovitosť a osobnosť našej jubilantky. Menšie či väčšie kapitoly v kolektívnych knižných publikáciách o okrasných rastlinách a encyklopédiach, práce v rôznych komisiách Akadémie zemедělských věд ČSSR a ČSFR (komisia ochrany rastlín, zahradnícka komisia, odbor rastlinné výroby), Ministerstva zemědělství a výživy (komisia pre koordináciu výzkumu a výroby antisér), ale i v komisiách medzinárodných organizácií (členka pracovnej skupiny pre vírusové choroby okrasných rastlín Medzinárodnej vedeckej záhradníckej spoločnosti - ISHS, členka panelu pre certifikáciu okrasných rastlín na patogény Európskej organizácii ochrany rastlín - EPPO). Aktívnu činnosť v zahraničných organizáciách charakterizuje usporiadanie 5. sympózia ISHS o vírusových chorobách okrasných rastlín v Prahe (1980) a pripravované 8. sympóziu ISHS zase v Prahe (24. - 28. 8. 1992). Činnosť a dobrú reprezentáciu čs. vedy v oblasti vírusových chorôb rastlín jej umožňujú dobré znalosti svetových jazykov (anglicky, francúzsky, nemecky, rusky aktívne a holandsky pasívne) a široké kontakty so zahraničnými vedeckými pracovníkmi.

Treba uviesť, že v našom štáte niet trocha významnejšej akcie v jej pracovnom odbore, na ktorej by Ing. M o k r á neprispela svojim referátom, inštruktážou, posterom, nabrala účasť v diskusiách. Oceniť treba aj jej spoluprácu s pracovníkmi ústavov ČSAV, SAV, ČSAZ, MZV a vysokých škôl, čo sa odráža pri uvádzaní spoluautorov pri viacerých vedeckých prácach i styk so širokou záhradníckou praxou a to nielen v Čechách, ale aj na Slovensku. Jej pracovný záber je široký a pri svojej práci využíva i tie najmodernejšie a najnáročnejšie pracovné metódy.

Pozdravujem Vierku Mokrú pri jej životnom jubileu a je mi ľúto a ťažko u srdca, že vedenie ústavu jej až v posledných dňoch priznalo hodnosť vedúceho vedeckého pracovníka, že nepodporovalo, resp. nevedelo jej skromnú povahu k napísaniu a k obhajobe doktorskej dizertácie. To sa malo uskutočniť už pred pätnástimi, desiatimi rokmi. To je jedna z našich zlých vlastností - že nevieme ohodnotiť a ceniť si vykonanej práce, že nevieme poskytnúť možnosti rozvoja a plného uplatnenia tvorčej osobnosti. Muselo dôjsť k politickému zlomu, aby sa čosi pohlo, bohužiaľ, je to už v čase keď Vierka Mokrú je už od 1. 1. 1992 na dôchodku, ale bude ďalej pokračovať na skrátenom úväzku.

Jej zdravotný stav a pracovný elán neutrpel vekom a ja jej prajem veľa dobrého zdravia a pohody, aby i v ďalších rokoch nachádzala v tvorčej práci naplnenie svojho života, spokojnosť z dobre vykonanej práce a mohla si užiť hodne radostí v kruhu svojej rodiny i medzi pracovníkmi ústavu, ktorému bola verná po celý svoj život.

Doc. Ing. Vít Bojňanský, DrSc.

OBALOVAČ BROSKYŇOVÝ (*CYDIA MOLESTA* BUSCK) - LETOVÁ AKTIVITA, TEPLOTNE - FENOLOGICKÝ MODEL VÝVOJA

Jozef MOLNÁR

Semex, š.p., Šľachtiteľsko výskumná stanica, 922 08 Veselé pri Piešťanoch

Práca zhrňa výsledky 9-ročného monitorovania letovej dynamiky obaľovača broskyňového (*Cydia molesta*) z oblasti juhozápadného Slovenska. Ukázalo sa, že škodca má tri úplné generácie do roka s kulmináciou letu prvej generácie od 120 do 150 d°, druhej generácie od 500-600, tretej generácie pri hodnote SET 950 d°. V rokoch s nadpriemernými teplotami v júli a v auguste sa vyvíja neúplná štvrtá generácia. Motýle lietajú vo večerných hodinách pri západe slnka. Bol vypracovaný jednoduchý teplotne-fenologický model vývoja.

Cydia molesta Busck; letová aktivita teplotne-fenologický model vývoja

Podmienkou uplatnenia prognostických metód v ochrane proti škodcom z radu Lepidoptera je poznanie ich letovej a populačnej dynamiky. K tomu je potrebné využitie spoľahlivých biologických údajov. Z klimatických činiteľov vývoj škodcu najviac ovplyvňuje teplota, a to jej hodnoty nad dolným a horným prahom vývoja, tzv. efektívne teploty. Naším cieľom bolo študovať vzťah teploty vzduchu (SET) k vývoju kritických fenologických štádií (začiatok výletu, maximálny vrchol motýľov) obaľovača broskyňového (*Cydia molesta* Busck).

Viacročným sledovaním letovej dynamiky s využitím biologického monitorovania na báze syntetických sexuálnych feromónov sme sa usilovali o získanie niektorých nových poznatkov bionómie, vypracovať jednoduchý teplotne-fenologický model vývoja tohoto škodcu. Model by poslúžil ako podklad pre riadenie chemickej ochrany s využitím signalizácie termínu ošetrovania. Pri štúdiu uvedenej problematiky sme vychádzali z početnej literatúry, z ktorej citujeme iba najdôležitejšiu: Croft et al. (1980), Dickler (1982), Frilli (1974), Jacob (1974), Hrdý et al. (1979), Molnár (1984), Ralston (1978), Reichart, Bodor (1972), Rothschild, Minks (1974), Sziráki (1979).

MATERIÁL a METÓDY

Sledovanie letovej aktivity a populačnej dynamiky obaľovača broskyňového (*Cydia molesta* Busck) sme robili vo výsadbách v SVS Veselé pri Piešťanoch, sad v Boroviciach, v rokoch 1982 až 1990. Lokalita sa nachádza v nadmorskej

výške 165 m s priemernou ročnou teplotou 9,05 °C a zrážkami 625 mm. Výsadba broskyň má spon 6x4 m. V priebehu vegetácie sa vykonáva intenzívna chemická ochrana proti hubovým chorobám a listovým voškám.

Sledovanie letovej aktivity sme robili pomocou feromónových lapákov. Odparníky s účinnou látkou pre lákanie samcov obaľovača broskyňového sme používali od firmy Zoecon (USA), označenej kódami OFM. Paralelne sme využili odparníky syntetizované na Ústave organickej chémie a biochémie ČSAV v Prahe, označené kódami CMO. V ostatných rokoch feromónové odparníky vyrábané v ZD AK Slušovice. V priebehu sledovania sme používali niekoľko druhov od rôznych firem (Zoecom, Stuttgart, Chemika Bratislava). Dnové a lepové vložky sme natierali nevysychavým lepom Bird Tanglefoot a tiež výrobok firmy Chemika Chemflor I.

V homogénnych výsadbách broskyň sme lapáky umiestňovali po diagonále do koruny stromov asi dva týždne pred predpokladaným výletom motýľov. Kontrolu úlovkov do zistenia prvého výskytu sme robili denne, potom trikrát týždenne. Odparníky, ako i lepové vložky sme vymieňali po štyroch až šiestich týždňoch. Pre malú špecifickosť feromónových odparníkov, ktoré lákajú i obaľovače slivkového (*Cydia funebrana*), za účelom oddelenia oboch druhov sme všetky úlovky mikroskopicky determinovali podľa metódy, ktorú uverejnili H r d ý et al. (1979).

Počty úlovkov cieľného druhu ako i prímеси sme zaznamenávali v protokoloch. Popri tom sme zaznamenávali i dátumy expozície, výmeny odparníkov, lepových vložiek a dátumy chemických ošetrení. Pre dosiahnutie potrebnej porovnateľnosti, sme absolútne hodnoty úlovkov vyjadrili v percentoch.

Vzťah medzi dynamikou kvantitatívneho vývoja obaľovača broskyňového a teplotou vzduchu, resp. súčtom efektívnych teplôt (SET) sme vyjadrovali graficky pre každú generáciu zvlášť. Údaje o hodinových teplotách sme získali z HMÚ - stanica Jaslovské Bohuňice, vzdialenej 6 až 7 km od výsadiieb. Sumáciou hodinových teplôt nad 10 °C sme dostali súčty hodinových teplôt, ktoré vydelením 24 sme získali tzv. denné stupne [d°].

Získané údaje z rokov 1983 až 1990 sme spracovali metódou aproximácie najmenších štvorcov pomocou ortogonálnych polynomov (R a l s t o n , 1978).

VÝSLEDKY

Prezimovanie a výlet prvých motýľov obaľovača broskyňového

Obaľovač broskyňový prezimuje v posledných larválnych instaroch na strome, na burinách alebo v pôde. Na strome využíva nerovnosti kôry, záhyby a pahýle. V marci až v apríli sa kuklí a v druhej polovici apríla až začiatkom mája vylietajú prvé motýle (tab. I).

I. Priebeh letu motýľov prvej generácie obalovača broskyňového v Borovciach - The course of the flight of the first generation of Oriental peach moths at Borovce

Gene- rácia ¹	Fenologické štádium ²		1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990
1.	začiatok výletu ³	dátum ⁶ d°		27.4 90	27.4. 52	12.5 94	25.4. 78	1.5. 55	3.5. 75	14.4 80	20.4. 70
	kulmiácia letu ⁴	dátum d°		16.5. 191	10.5. 103	23.5. 175	7.5. 174	18.5. 112	16.5. 152	10.5. 139	10.5. 138
	ukončenie letu ⁵	dátum d°		6.6. 368	25.6. 346	14.6. 325	29.5. 330	24.6. 318	15.6. 345	12.6. 346	15.6. 340
2.	začiatok výletu	dátum d°		30.6. 539	12.7. 456	1.7. 402	16.6. 425	3.7. 417	1.7. 461	22.6. 406	25.6. 421
	kulmiácia letu	dátum d°	19.7. 629	27.6. 519	27.8. 832	18.7. 550	23.6. 501	13.7. 515	12.7. 573	7.7. 573	9.7. 554
	ukončenie letu	dátum d°		21.7. 787	20.9. 982	8.8. 742	21.7. 732	3.8. 725	29.7. 748	28.7. 764	25.7. 692

Holds for Table I and III:

¹generation; ²phenological phase; ³begining of flight; ⁴culmination of flight; ⁵termination of flight; ⁶date

Variabilita výletu prvých motýľov býva veľká, nielen v kalendárnych dátumoch, ale i v hodnotách sumy efektívnych teplôt (50 až 90 d°). Veľmi nízke počty úlovkov (osem jedincov za vegetáciu) sme si vysvetľovali decimujúcim účinkom silných mrazov v zime 1981 až 1982, kedy v januári 1982 poklesli teploty až na -24 °C.

Overenie odolnosti prezimujúcich lariev obalovača broskyňového nám poskytla zima v rokoch 1984 až 1985 a 1986 až 1987. Za kritérium vplyvu silných mrazov na prezimujúce larvy bola početnosť úlovkov na lapákoch prezimujúcej generácie. V práci ju nazývame relatívna populačná hustota (RHP), vyjadruje priemerný počet úlovkov za príslušnú generáciu alebo vegetáciu. Intenzitu mrazov sme vyjadrovali počtom dní v danom rozpatí (tab. II).

Relatívna populačná hustota prvých generácií po silných mrazoch 1984 až 1985 bola na úrovni roku 1989, ktorej vegetácii predchádzala veľmi mierna zima. Hoci v zime v roku 1987 poklesli teploty v sledovaných výsadbách až na -31 °C (11. 1. 1987), RHP neklesla. I keď vylúčime vplyvy ostatných abiotických a biotických činiteľov na prezimujúce larvy, možno usudzovať na vysokú odolnosť prezimujúcich lariev voči nízkym teplotám počas vegetačného pokoja.

II. Vplyv mrazov v zimných mesiacoch na relatívnu populačnú hustotu prvej generácie obalovača broskyňového - The effect of frosts on the relative population density of the first generation of Oriental peach moth in winter months

Intenzita mrazov ¹ [°C]	1984-1985 p.d.	1985 r. p. h.	1986-1987 p. d.	1987 r. p. h.	1988-1989 p. d.	1989 r. p. h.
-10 až -15	17		23		3	
-16 až -20	20	103	11	32	0	30
-21 až -25	4		2		0	
-26 a méně ²	0		2		0	

p. d. = počet dní - number of days

r. p. h. = relatívna populačná hustota - relative population density

¹frost intensity in the range; ²and low

Prvá generácia obaľovača broskyňového

Výlet prvých motýľov nastáva pri SET od 50 až 90 d° (tab. I). Nepozorovali sme koreláciu medzi hodnotami SET pri tzv. skorých rokoch (1983, 1986, 1989), alebo v "neskorých" rokoch. Tieto termíny sú definované dátumom, kedy SET kumulovaná od 1. januára dosiahne hodnotu 100 d° (tab. II).

Hoci let samcov prebiehal v niekoľkých vlnách, vo väčšine rokov kulminoval pri prvej výraznej vlne približne v polovici mája pri hodnotách SET asi 150 d°, v rozsahu 103 až 190 d°. Je zaujímavé, že v rokoch s chladným počasím v jarných mesiacoch 1984 let kulminoval už pri 103 d°. K ukončeniu letu motýľov prvej generácie dochádza v poslednej dekáde mája až v polovici júna pri 350 d° (318 až 383 d°). Obdobie letu trvá priemerne 47 dní (35 až 59 dní).

Vymedzenie priebehu letu jednotlivých generácií sme robili podľa letovej krivky. Pokles krivky a jej následný vzostup znamenal ukončenie predchádzajúcej a začiatok nasledujúcej generácie, za predpokladu naplnenia hodnoty teplotnej konštanty pre celkový vývoj obaľovača broskyňového.

Druhá generácia obaľovača broskyňového

Začiatok letu motýľov druhej generácie sa deje v druhej polovici júna až začiatkom júla pri SET 400 až 450 d° (tab. I). Uskutočňuje sa obyčajne v jednej vlne s kulmináciou pri SET 500 až 570 d°. V rokoch s chladným počasím (1984) let motýľov kulminoval až 28. augusta pri SET 832 d°.

Ukončenie letu nastáva koncom júla až začiatkom augusta pri pomerne vyrovnaných hodnotách SET 750 d°. V spomínanom chladnom roku 1984 motýle druhej generácie ukončili let až v druhej dekáde septembra (982 d°). Ak vylúčime anomáliu z roku 1984, let motýľov druhej generácie trval 37 dní.

U obaľovača broskyňového sa let motýľov druhej a tretej generácie časove prelína, čo sa prejavuje výskytom rôznych vývojových štádií. Generačná príslušnosť motýľov sa v prírodných podmienkach nedá determinovať.

Tretia generácia obaľovača broskyňového

Let motýľov tretej generácie probieha pri malom rozpätí SET 750 až 800 d° (tab. III). V chladnom roku 1984 až pri hodnote SET 992 d°. Veľmi zaujímavá a z praktického hľadiska významná je skutočnosť, že motýle tretej generácie obaľovača broskyňového kulminujú svoj let pri 950 d°, v druhej dekáde augusta. Let končí v druhej dekáde septembra (SET 1150 až 1200 d°), hoci ojedinelé motýle nalietajú na feromónové lapáky i v októbri.

III. Priebeh letu motýľov tretej a neúplnej štvrtej generácie obaľovača broskyňového v Borovciach - The course of the flight of the third and incomplete fourth generation of Oriental peach moths at Borovce

Fenologické štádium ¹		1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990
Začiatok výletu	dátum	25.7.	24.9.	15.8.	10.8.	1.8.	31.7.	27.7.	
	d°	826	992	814	786	758	778	791	711
Kulminácia letu	dátum	11.8.	4.10.	26.8.	11.8.	4.9.	15.8.	18.8.	18.8.
	d°	997	1023	917	961	953	935	966	961
	dátum	22.9.					3.10.		25.9
	d°	1368					1226		1183
Ukončenie letu	dátum	29.8.	1.11.	21.10.	25.9.	28.9.	16.9.	27.9.	11.9.
	d°	1193	1069	1148	1229	1130	1146	1244	1146
	dátum	10.10.					19.10.		30.10.
	d°	1428					1284		1257

Neúplná štvrtá generácia obaľovača broskyňového

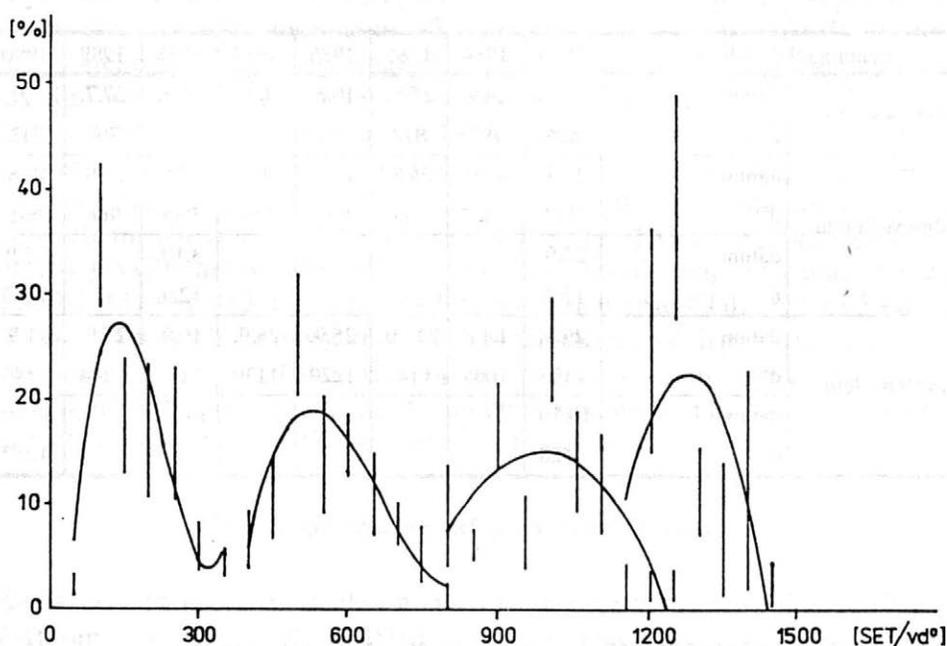
Obaľovač broskyňový je u nás pomerne novým škodcom. Jeho prvý hromadný výskyt je známy z roku 1976 (H r d ý, K r a m p o l, 1977). Počet generácií nie je u neho dedične ustálený. V rokoch s nadpriemernými teplotami v júli až v auguste môže sa vyvinúť neúplná štvrtá generácia (tab. IV).

IV. Vplyv teploty (v SET v d°) na výskyt tretej a štvrtej neúplnej generácie obalovača broskyňového - The effect of temperature (in SET in d°) on the occurrence of the third and fourth incomplete generation of Oriental peach moth

Mesiac ¹	Tretia generácia ²			Neúplna štvrtá generácia ³		
	1984	1985	1986	1983	1988	1990
Júl	214	254	257	354	305	280
August	254	255	272	299	284	327
September	133	128	132	171	144	99

¹month; ²3th generation; ³4th incomplete generation

Vysoké teploty v júli a v auguste v rokoch výskytu neúplnej štvrtej generácie obalovača broskyňového (1983, 1988, 1990) tomu nasvedčujú. Teploty v septembri už nemali vplyv na výskyt neúplnej štvrtej generácie.



1. Letová dynamika obalovača broskyňového (*Cydia molesta* Busck) v Boroviciach v rokoch 1983 - 1990 - The flight dynamics of Oriental peach moth (*Cydia molesta* Busck) at Borovce in the year 1983 - 1990

x = percentá z úlovkov za generáciu - percent of samples per generation; y = suma efektívnych teplôt v denných stupňoch - sum of effective temperatures in daily degrees

Na obtiažnosť vymedzenia letu jednotlivých generácií poukazuje obr. 1, ale i tab. II a III. Splývanie letu motýľov tretej a neúplnej štvrtej generácie nám neumožnilo stanoviť začiatok letu neúplnej štvrtej generácie v uvedených rokoch. Výrazne sa však prejavila kulminácia letu tejto generácie. K presnejšiemu vymedzeniu letovej aktivity jednotlivých generácií nám poslúžili tzv. termálne konštanty (*T_k*). Tieto sme zisťovali z rozdielov hodnôt SET medzi kulmináciami druhej a prvej a tretej a druhej generácie. Na základe týchto zistení sme stanovili *T_k* pre celkový vývoj úplnej generácie obaľovača broskyňového v prírodných podmienkach 430 d°.

Denný rytmus obaľovača broskyňového

Výskyt a doba trvania letu motýľov obaľovača broskyňového ovplyvňujú viaceré vnútorné a vonkajšie faktory. Je však vždy podmienený určitými hraničnými teplotami, ako sú spodný a horný (u nás zriedka aktuálny) prah pre let.

Monitorovanie denného rytmu letu motýľov sme robili v obdobiach kulminácie letu druhej a tretej generácie. Za účelom získania väčšieho počtu úlovkov sme použili štyri až šesť lapákov. Odpočet ulovených motýľov sme robili v hodinových intervaloch.

Motýľe obaľovača broskyňového lietajú iba vo večerných hodinách a ich let je viazaný na západ slnka. Začína asi 1 až 1,5 hodiny pred a končí 1,5 až 2 hodiny po západe slnka. Ojedinelé motýľe nalietať na feromónové lapáky i pri teplotách 12 °C. Silnejšie a pravidelné nálety sme zaznamenali pri teplotách nad 14 °C.

Z ostatných povetnostných činiteľov letovú aktivitu obaľovača broskyňového negatívne ovplyvňujú zrážky búrkového charakteru a rýchlosť vetra presahujúca 8 až 10 m za sekundu.

Teplotno-fenologický model obaľovača broskyňového

Na základe výsledkov štúdia letovej aktivity obaľovača broskyňového možno vypracovať jednoduchý teplotno-fenologický model:

Prvá generácia:

prvý výlet motýľov pri hodnotách SET	50-90 d°
maximálny vrchol letu motýľov	120-150 d°
ukončenie letu motýľov	asi 350 d°

Druhá generácia:

výlet motýľov pri hodnotách SET	400-450 d°
maximálny vrchol letu	500-600 d°
ukončenie letu	asi 750 d°

Tretia generácia:

výlet motýľov pri hodnotách SET	750-800 d°
maximálny vrchol letu	asi 950 d°
ukončenie letu	1100-1200 d°

Neúplná štvrtá generácia:

maximálny vrchol letu motýľov	asi 1200 d°
ukončenie letu	1250-1300 d°

DISKUSIA

Nepotvrdil sa názor autora (M o l n á r, 1984), ktorý v súhlase s inými (R e i c h a r t - B o d o r, 1972; F r i l l i, 1974; D i c k l e r, 1982) predpokladali zvýšenú citlivosť prezimujúcich lariev obaľovača broskyňového k silným mrazom v období vegetačného pokoja. Výsledky analýz vplyvu mrazov na prezimujúce larvy z rokov 1984 až 1985 a 1986 až 1987 ukázali naopak vysokú odolnosť k nízkym teplotám. Svedčí o tom pomerne vysoká RPH prvej generácie obaľovača broskyňového v roku 1987, kedy v januári poklesli teploty až na -31 °C.

Podobne i analýzy vplyvu teplôt na pred a postdiapauzálny vývoj obaľovača broskyňového vo vzťahu k RPH prvej generácie neobjasnili túto otázku. Nízka RPH prvej generácie spočíva v nedostatočnom larválnom vývoji poslednej generácie z predchádzajúceho roku (S z i r á k i, 1979). Pre nedostatok potravy značná časť lariev neprechádza do diapauzy, ale pokračuje vo vývoji a neprezimuje.

Variabilita v dátumoch kritických fenologických fáz (najmä kulminácie letu) v jednotlivých rokoch je pochopiteľná. Ale hodnoty SET k týmto štádiám by mali byť teoreticky rovnaké. Naše poznatky tomu nenasvedčujú (tab. II až IV). Týka sa to nielen hodnôt SET pre prvý výlet, ale i hodnôt pre kulmináciu letu prvej a druhej generácie. Menšia variabilita hodnôt SET je pri fenofáze kulminácie letu motýľov tretej generácie, čo je v súhlase s pozorovaním amerických autorov (C r o f t et al., 1980). Variabilita je ovplyvňovaná zohľadňovaním jedného, i keď najdôležitejšieho faktora ovplyvňujúceho vývoj - teplotou, ďalej i spôsob grafického vyjadrovania priebehu letu. Vychádzali sme z úhrnu úlovkov za obdobie charakterizované SET po 50 d°, dátumované ku koncu tohoto obdobia, ktoré v časovom vyjadrení trvá päť až desať dní. Tým sa posúvajú vrcholy letových kriviek doprava (teda k vyšším hodnotám SET). O tieto chyby sa zaťažuje presnosť signalizovaného termínu (výskytu, ošetrovania ap.).

Vypočítaná hodnota T_k pre celkový vývoj obaľovača broskyňového sa nezodpovedá s údajmi iných autorov (J a c o b , 1974; B a i l e y , 1980; C r o f t et al., 1980 a i.). Rozdiely bývajú spôsobené i neadekvátnym vyjadrovaním priemernej dennej teploty. Je niekoľko algoritmov výpočtu priemernej dennej teploty. Najpresnejší sa ukázal algoritmus výpočtu z hodinových priemerov. Klasický spôsob $(7,0 + 14,0 + 21,0 \times 2/4)$, ako i algoritmus tzv. teplotných jednotiek vypočítané priemery podceňujú. Ďalej hodnoty T_k ovplyvňujú i použitie spodných prahov vývoja (od 7,2 do 13,6 °C).

Vypracovaný teplotne-fenologický model vývoja obaľovača broskyňového je podkladom pre vypracovanie modelu riadenia ochrany, ale signalizáciu termínu výskytu či chemického ošetrovania len orientačný charakter. Musí byť doplnený biologickým monitorovaním v konkrétnej výsadbe.

Naše výsledky potvrdili, že let motýľov obaľovača broskyňového je viazaný na západ slnka, ako to zistili R o t h s h i l d - M i n k s (1974). Ukázalo sa, že v literatúre udávaná prahová hodnota pre let motýľov 16 °C (R o t h s h i l d - M i n k s , 1974; S z i r á k i , 1979) je v našich podmienkach nižšia. To je v súhlase s literárnymi údajmi (R o e h r i c h , 1961), že v európskych podmienkach lietajú motýle obaľovača broskyňového už pri teplotách 11 °C.

PodĎakovanie

Za technickú pomoc pri spracovaní výsledkov a pozorovaní ďakujem pánovi Júliusovi S t r e - ě a n s k é m u a pani Daniele J u r i c o v e j .

Literatúra

- BAILEY, P.: Oriental fruit moth in South Australian peach orchards: Monitoring moth activity and abundance and estimating first egg hatch. *Z. angew. Ent.*, 89, 1980, s. 377-386.
- CROFT, B. A. et al.: Validation of a PETE timing model for the Oriental fruit moth in Michigan and central California (Lepidoptera: Olethreutidae). *The great lakes entomologist*, 1980, s. 211-217.
- DICKLER, E.: Über die Verbreitung der Quarantäneschädlinge *Anarsia lineatella* Zell. und *Grapholitha molesta* Busck in der Bundesrepublik Deutschland. *Nachr.-Bl. Dtsch. Pfl.-Schutzdienst*, 34, 1982, s. 145-152.
- FRILLI, F.: L'impiego di attrattivi sessuali di sintesi per il controllo di *Cidya molesta*. *Entomologica*, 10, 1974: 31-56.
- HRDÝ, I. - KRAMPOL, F. - KULDOVÁ, J. - MAREK, J. - ŠIMKO, K.: Mapování obalovače východního (*Cydia molesta*) feromonovými lapáky. *Ochr. Rostl.*, 4, 1979, s. 256-269.
- JACOB, M.: Combaterea chimica a moliei orientale a fructelor (*Grapholita molesta* Busck) si a Moliei piersicului (*Anarsia lineatella* Zell.) in Plantatiile de piersici. *An. I.C.P.P.*, 1974, s. 286-295.
- MOLNÁR, J.: Priebeh letu niektorých škodcov broskýň a marhúf: monitorovanie pomocou feromonových lapačov. In: Sbor. Symp. integr. produkce ovoce. České Budějovice 1984, s. 149-153.
- RALSTON, A.: Základy numerické matematiky. Praha, Academia 1978.
- REICHART, G. - BODOR, J.: Biology of the Oriental fruit moth (*Grapholita molesta* Busck) in Hungary. *Acta phytopath. Acad. Sci.*, 7, 1972, s. 279-295.

ROEHRICH, R.: Contribution a l'étude écologique des populations de la Tordeuse du Pecher (*Grapholita molesta* Busck) dans la région Equitaine. Ann. Epiph. (Paris), 12, 1961, s. 1-114.

ROTHS-HILD, G. H. L. - MINKS, A. K.: Time of activity of male Oriental fruit moths at pheromone sources in the field. Envir. Ent., 3, 1974, s. 1003-1007.

SZIRÁKI, Gy.: Dispersion and movement activity of the Oriental fruit moth (*Grapholita molesta* Busck) in large scale orchards. Acta phytopat. Acad. Sci., 14, 1979, s. 209-228.

Došlo dňa 10.5. 1991

*J. Molnár (Semex, State Enterprise - Breeding and Research Station,
Veselé pri Piešťanoch, Czechoslovakia)*

Oriental peach moth (*Cydia molesta* Busck) - flight activity, temperature-phenological model of development

The work summarizes the results of nine-year observation (1982 - 1990) of the flight activity of Oriental peach moth (*Cydia molesta* Busck) in dependence on the temperature expressed in the sum of effective temperatures (SET) in relation to critical phenological phases (the beginning, culmination and termination of the flight of moths). The monitoring was carried out within the plantings of the Breeding and Research Station Veselé near by Piešťany in the Central Váh basin (the Slovak Republic). For the purpose of monitoring, pheromone traps were used. As Oriental peach moths are visually similar to plum fruit moths, all the samples in traps were subjected to the microscopic determination according to the formation of internal genitalia. The data on temperature were obtained at the Hydrometeorological Institute - Station at Jaslovské Bohunice, about 6 to 7 km distant from the plantings of the Breeding and Research Station. The calculation of average daily temperatures was based hourly averages and the calculation of SET was obtained by the summation above 10 °C (development threshold). The values in the so called hoidn degrees were converted into daily degrees (d°). The results obtained were processed into tables and diagrams for individual years as well as for the whole period of observation. They were statistically processed using the method of the approximation of the smallest the squares by means of orthogonal polynomials (R a l s t o n , 1978). Oriental peach moth, a minute moth (Mikrolepidoptera), is overwintering in the last larval instars (L4 to L5). Its larvae are resistant to low temperatures the drop of which below -31 °C does not decimate them (Table I). The flight of overwintered generation (the first one) moths begins in the second half of April at the values of SET being 55 to 95 daily degrees. The culmination of flight is in mid-May (SET 120-150 d°) and the termi-

nation of the flight of the first generation moths is at the end of May - beginning of June (SET - 300-350 d°) - Table II. The second generation of Oriental peach moth starts its flight in the second decade of June - the first decade of July (SET 400 to 450 d°). During this period the flight of moths culminates at the values of SET being 500-600 d°. The flight of moths terminates at the end of July - beginning of August (SET about 750 d°). Whereas the flight of the first generation moths is comparatively short and as to time separated, the flight activity of the second generation moths is prolonged and it fuses together with what of the third generation moths which can be seen at the flight curve in Fig. 1. The flight of the third generation moths starts in the second decade of July - the first decade of August at the values of SET being 750-800 d°. The flight culminates in the second decade of September (SET 1100-1200 d°) - Table IV. In the years with above-average temperatures in July and August the incomplete fourth generation of Oriental peach moth develops. The beginning of its flight cannot be specified as it fuses together with the moths of the third generation, but its flight culminates in mid-September at the values of SET being 1200 d° and terminates at the end of September till mid-October (SET 1250 to 1300 d°). The course of the flight of individual generation moths was specified according to the flight peaks of flight curves as well as by help of temperature constant (Tk) for the general development of Oriental peach moth. According to the authors observations its value is about 430 d°. Oriental peach moths are flying at dusk, their flight is tied up with sunset. The threshold value of flight is at the temperature of 12 to 14 °C. The weather factors negatively acting on the flight are strong winds and precipitation storm character.

Cydia molesta Busck; flight activity; temperature-phenological model of development

Recenze

SEROLOGICAL METHODS FOR DETECTION AND IDENTIFICATION OF VIRAL AND BACTERIAL PLANT PATHOGENS

Sérologické metody pro stanovení a identifikaci rostlinných virů a bakterií
(Laboratorní příručka)

R. Hampton, E. Ball, S. de Boer (Eds)

St. Paul, Mennesota, USA, The American Phytopathological Society, APS Press 389 s.

V příručce jsou v pěti hlavních kapitolách uvedeny praktické postupy v současné době rozpracovaných sérologických metod pro stanovení rostlinných virů a bakterií. Úvodní kapitola je věnována preparativním metodám vzájemných vztahů antigenů s mono- a polykoniálními protilátkami (R. L. Mernaugh, G. R. Kovacs - Texas Univ.). M. K. Brakke (Univ. Nebraska) uvádí vybrané metody purifikace antigenů, kapsidového proteinu a inkluzí. De Boer (Agric. Canada Res. Stat., Vancouver) seznamuje s preparací antigenů bakterií, lipopolysacharidů a ribosomů. E. M. Ball, R. O. Hampton, De Boer a N. W. Schaad a kol. (Lincoln, Cornvallis a Vancouver Univ.) uvádějí manipulace s polykoniálními protilátkami, včetně výběru imunizovaných zvířat, užití různých adjuvací a způsobu imunizační techniky. Další problematika je zaměřena na strategii výzkumu monoklonálních protilátek, jsou uvedeny nevhodnější způsoby purifikace antigenů, získání hybridomů a praktická aplikace monoklonálních protilátek v rostlinné bakteriologii. D. J. MacKenzie (Vancouver Res. Stat.) uvádí v dalším příspěvku přípravu konjugátů. E. M. Ball (Lincoln. Univ. Nebraska) a D. E. Purcifall (Univ. Florida, Gainesville) používané techniky difúze v agaru pro stanovení fytovirů. U bakterií její aplikaci popsal H. Bouzar (Univ. Blida. Alžír) a L. W. Moore (Oregon Univ.). Na uvedenou problematiku bezprostředně navazuje část pojednávající o intragelové specifické absorpci a o precipitačních zkumavkových testech u virů. U bakterií jsou popsány mikroaglutinace. Duffus (USDA, California) seznamuje s precipitací na sloupci (density gradient), Tramaine (Vancouver Agric. Res. Stat.) uvádí metody imunoelektroforetické a raketovou imunoelektroforézu. Postupy různými metodami imunoenzymatického testu ELISA uvádí R. H. Converse (Cornvallis a R. Martin-Agric. Res. Stat., Vancouver). Jsou popsány metody přímé i nepřímé ELISA metody, jeho použití i u prokaryotních organismů. Podrobně jsou uvedeny také další diagnostické metody virů a bakterií, metoda RIA, metoda použití fluorescenčních protilátek (Gingery, Ohio State Univ.). Langenberg (Univ. Nebraska) uvádí metody ISEM - imunisorpční elektronové mikroskopie. Závěrečná kapitola je věnována imunologické technice se zřetelem na molekulární rostlinnou fytopatologii (C. R. Orser, C. Beck-Univ. Idaho).

Kniha je cenná zejména tím, že je psána specialisty na jednotlivé úseky, čímž je zaručena vysoká odbornost, dále skutečnost, že je podána ryze prakticky, dokonce ve formě konkrétních metodických postupů. Bude jistě významným přínosem pro rostlinné virology a bakteriology, zajímající se o studium sérodiagnostických metod. Nezanedbatelná není ani připojená bibliografie na konci každé kapitoly a malý slovníček terminologie a index celého svazku.

Ing. Jiří Chod, DrSc.

MOŽNOSTI OCHRANY PŠENICE OZIMNEJ PROTI MAZĽAVKE TRPASLIČEJ

Milan LIŠKA

Ústredný kontrolný a skúšobný ústav poľnohospodársky, Švermova 3, 041 39 Košice

Na ozimnej pšenici odrody Vala, Hana, Košútka a Iris sme skúšali účinnosť fungicídov proti *Tilletia controversa* aplikovaných morením osiva a novým spôsobom foliárnou aplikáciou zameranou na ošetrovanie koleoptila rastlín v štádiu 1 až 3 listov. Z moridiel vykázali požadovanú účinnosť Dividend 30 WS (2 kg/t), Sibutol 39,8 WS (2 l/t), Vincit F (3 l/t) a Beret combi 40 WS (0,5 kg/t). Foliárnou aplikáciou je možná ochrana na požadovanej úrovni prípravkom Alto 100 S (2,4 l/ha) a Score 250 EC (0,8 l/ha). Ošetrovanie porastu vzišlo až v jarnom období taktiež chráni porast proti *Tilletia controversa*, ale neúčinkuje na *T. caries*, resp. *T. foetida*.

Tilletia controversa Kühn; morenie osiva; foliárna aplikácia

Obávanou skupinou húb vyskytujúcou sa na ozimných pšenicách sú mazľavky. Najzávažnejší problém z hľadiska možnosti ochrany a hospodárskeho dopadu predstavuje mazľavka trpasličia (*Tilletia controversa* Kühn). Táto choroba nadobúda v posledných rokoch značný význam na intenzite výskytu a geografickom rozšírení (P a u l e c h , 1957, 1964; M o r a v č í k , L a n á k , 1976; M o r a v č í k , 1989), pričom ovplyvňuje kvalitu i kvantitu úrody.

Pretože fyto karanténne opatrenia nezaručujú uspokojivé zníženie intenzity a rozšírenie výskytu choroby, zamerali sme sa v pokusoch na zistenie možnosti a spôsobu chemickej ochrany pšenice ozimnej proti tomuto patogénu (L i š k a , 1981, 1987; F a n d l o v á , 1989).

MATERIÁL a METÓDY

Na stacionárnom stanovišti RD Vyšné Raslavice sme založili v rokoch 1987 až 1990 maloparcelkové pokusy s pšenicom ozimnou odrody Vala, Hana, Košútka a Iris. Osivo pochádzalo z proveniencie pokusnej lokality, ktoré bolo prirodzenou cestou infikované. Umelú infekciu povrchu pôdy pokusov sme robili po zasiati, spôsobom rozhádzania 5 kg piesku zmiešaného s 60 g chlamyospór *Tilletia controversa*.

I. Charakteristika skúšaných fungicídov proti *Tilletia controversa* na pšenici ozimnej - The characteristics of tested fungicides against *Tilletia controversa* on winter wheat

Prípravok ¹	Obsah a účinná látka ²	Výrobca ³	Dávka ⁴
	Moridlá ⁶		na t osiva ⁵
Sibutol 39.8 WS	37,5 % bitertanol	Bayer	2 kg/t + 8 l H ₂ O
Sibutol FS 398	2,3 % fuberidazol 375 g/l bitertanol	Bayer	2 l + 8 l H ₂ O
Baytan combi 17,5 DS	23 g/l fuberidazol 15 % triademenol	Bayer	2 kg
Trimisem 10/1,5 SC	2,5 % fuberidazol 10 % nuarimol	Elanco	2 l + 8 l H ₂ O
Ferrax	1,5 imazalil 3 % flutriafol	ICI-Agrochem.	3 l + 7 l H ₂ O, r. 1987
Vincit F	1 % thiabendazol 40 % ethirimol	ICI-Agrochem	2,5 l + 7 l H ₂ O, r. 1988
Q 5448	2,5 % thiabendazol 10 % Cu oxin	La Quinoleine	2 kg
BF-51 90 WS	20 % carbendazim 90 % izopamfos	Chemolimpex	2 l + 7 l H ₂ O
Befran 25 % LS	25 % iminocetadieneacetat	Dainippon Ink	3 l + 7 l H ₂ O
Dividend 30 WS	300 g/kg difenoconazol	Ciba Geigy	2 kg + 8 l H ₂ O
Beret combi 40 WS	200 g/kg fenpiclonil	Ciba Geigy	0,5 kg + 9,5 l H ₂ O
Alto 40 WP	200 g/kg difenoconazol	Sandoz	1 kg + 9 l H ₂ O
SAN 764 F 30,25 FS	40 % cyproconazol neudané cyproconazol	Sandoz	1 l + 8 l H ₂ O
	Postreky ⁶		na ha ⁻¹
Alto 40 WP	40 % cyproconazol	Sandoz	0,6 kg; 0,4 kg; 0,2 kg
Alto 100 EC; SL	10 % cyproconazol	Sandoz	2,4 l; 1,6 l; 0,8 l
Score 250 EC	250 g/l difenoconazol	Ciba Geigy	0,8 l; 0,6 l; 0,4 l
Tecto 450 FW	400 g/l thiabendazol	Ciba Geigy	4 l
Tilt CB 187,5 SC	62,5 g/l propiconazol	Ciba Geigy	3 l
Sportak PF	120 g/l carbendazim 30 % prochloraz	Schering	1,5 l
Impact C	8 % carbendazim 9,4 flutriafol	ICI-Agrochem.	1,2 l
SAN 656 F 460 SC	15 % carbendazim 16 % cyproconazol	Sandoz	0,5 l
Perlka G hnojivo	30 % carbendazim 44 % calcium cyanamid	SKW Trostberg	1000 kg.ha ⁻¹

¹preparation; ²contents and active agent; ³producer; ⁴application rate; ⁵per tonne of seeds; ⁶disinfectants; ⁷substances

Pšenicu sme vysievali 17.9.1986; 21.9.1987; 22.9.1988; 12.9. a 14.10.1989 maloparcelkovou sejačkou v štyroch opakovaníach na parcelách o veľkosti 15 m². Realizovali sme aj vysekanie pokusov z prevádzkových plôch, kde sme overovali len účinnosť foliárnej aplikácie. Výsev na týchto parcelách bol robený 28.9.1987, resp. 10.11.1988, v ktorom porast vzišiel až v jarnom období.

Osivo sme morili spôsobom nastriekavania vo vode rozpustených skúšaných moridiel (tab. I), pomocou fixírky, za stáleho chodu laboratórnej moričky.

Foliárnu aplikáciu sme robili 16.10.1986; 13.10.1987; 26.10.1988; 4.10.1989, resp. 22.10.1987; 7.4.1989 v rastovej fáze vytvorenia 1-3 listov, postrekovačom Solo 475, dávkou postrekovej tekutiny 500 l/ha.

Hodnotenie účinnosti skúšaných prípravkov sme robili v štádiu voskovej zrelosti odpočtom napadnutých klasov na 1 m² z troch náhodne vybratých miest každého variantu a opakovania. Percento napadnutia sme vypočítali z priemerného počtu napadnutých klasov na 1 m² prepočtom na priemerný počet všetkých klasov z 1 m². Fungicídnu účinnosť sme vypočítali podľa Abotta. Štatisticky významný rozdiel k \bar{x} napadnutiu klasov sme vypočítali analýzou variancie.

VÝSLEDKY

V jednotlivých rokoch na sledovaných pokusoch sme zaznamenali kolísavú intenzitu výskytu patogéna.

Výskyt mazľavky na jednotlivých variantoch bol adekvátne tlmený zodpovedajúcej dosahovanej účinnosti moridiel a postrekov, ktorá bola štatisticky preukazne rozdielna v porovnaní s kontrolou (tab. II).

Zo skúšaných prípravkov, aplikovaných ako moridlo, Sibutol 39,8 WS potvrdil relatívne spoľahlivú účinnosť, ktorá však v daných provokačných podmienkach dosahovala nižšie hodnoty než je požadovaná úroveň. To poukazuje na to, že pri silnejšom infekčnom tlaku ani Sibutol 39,8 WS, pokiaľ nie je zabezpečená jeho rovnomernosť rozdistribuovania po obilkách, nezaručuje 100% účinnosť proti mazľavke trpasličej. Rozkolísané výsledky preukázal Sibutol FS 398, čo má súvislosť s obťažnosťou dosiahnuť rovnomernosť pokryvnosti obiliek tekutými moridlami.

Relatívne vysokú fungicídnu účinnosť vykázal aj Vincit F, ktorý v porovnaní so Sibutolom 39,8 WS však dosahoval slabšiu, i keď nie štatisticky preukazne rozdielnu účinnosť. Ferrax dosahoval slabšiu účinnosť než Vincit, obdobne nepreukazne rozdielnu.

II. Fungicídna účinnosť prípravkov proti *Tilletia controversa* na pšenici ozimnej - Fungicidal effectiveness of preparates against *Tilletia controversa* on winter wheat

Prípravok - spôsob ošetrovania ¹	Dávka ²	\bar{x} napadnutie klasov ³ z m ²	Fungicídna účinnosť ⁴ [%]	Odroda ⁵	Rok ⁶
Morenie⁷	na 1 t osiva⁹				
Kontrola % napadnutia 4,99	-	26,96	-	Vala	1986/1987
Sibutol 39,8 WS	2 kg	3,05	88,77		
Baytan combi 17,5 DS	2 kg	6,14	77,35		
Trimisem 10,5/1,5 SC	2 l + 8 l H ₂ O	25,03	7,21		
Ferrax	3 l + 7 l H ₂ O	4,87	81,96		
Vincit F	3 l + 7 l H ₂ O	3,90	85,57		
Q 5448	2 kg	13,98	48,29		
BF - 51 90 WS	2 l + 8 l H ₂ O	12,44	59,90		
Foliárne ošetrovanie⁸	na ha¹⁰				
Alto 40 WP	0,6 kg	0,21	99,39	Hana	1987/1988
Tecto 450 FW	4 l	6,37	76,55		
Tilt CB 187,5 SC	3 l	4,09	84,96		
Befran 25 % LS	3 l	11,50	57,51		
Štatisticky významný rozdiel napadnutia klasov ⁹ k \bar{x} pre $P_{0,05} = 4,96$ ks; $P_{0,01} = 6,70$ ks					
Morenie	na 1 t osiva				
Kontrola % napadnutia 27,97	-	235	-	Hana	1987/1988
Sibutol 39,8 WS	2 kg + 8 l H ₂ O	38	83,83		
Sibutol FS 398	2 l + 8 l H ₂ O	33	85,98		
Befran 25 % LS	3 l + 7 l H ₂ O	45,87	80,47		
Vincit F	2,5 l + 7,5 l H ₂ O	65	72,36		
Ferrax	3 l + 7 l H ₂ O	74,12	68,46		
Alto 40 WP	1 kg + 9 l H ₂ O	4,16	95,06		
Foliárne ošetrovanie	na ha				
Alto 40 WP	0,6 kg	4,50	98,10		
Alto 40 WP (morenie + postrek)	1 kg + 9 l H ₂ O.t ⁻¹ + 0,6 kg.ha ⁻¹	0	100		
Štatisticky významný rozdiel napadnutia klasov k \bar{x} pre $P_{0,05} = 65,16$ ks; $P_{0,01} = 87,84$ ks					

Morenie	na t osiva				
Kontrola % napadnutia 10,46	-	27	-		
Sibutol 39,8 WS	2 kg + 8 l H ₂ O	3,25	88,04		
Sibutol FS 398	2 l + 8 l H ₂ O	7,50	72,27		
Befran 25 % LS	3 l + 7 l H ₂ O	8,50	68,54		
Dividend 30 WS	2 kg + 8 l H ₂ O	0	100	Hana	
Foliárne ošetrovanie	na ha				
Score 250 EC	0,6 kg	2,75	89,86		
Sportak PF	1,5 l	5,75	78,77		
Alto 100 SL	2,4 l	2	92,63		
Triticale - Dagro	-	0	100		
Perlka G - hnojivo	1000 kg	8	10,03		
Štatisticky významný rozdiel napadnutia klasov k \bar{x} pre $P_{0,05} = 1,89$ ks; $P_{0,01} = 2,55$ ks					
Morenie	na t osiva				Výsev
Kontrola % napadnutia 0,56	-	2,25			12.9.
Kontrola % napadnutia 0,93	-	4			4.10.
Sibutol FS 398	2 l + 8 l H ₂ O	0	100		
Vincit F	3 l + 7 l H ₂ O	0	100		
Dividend 30 WS	2 kg + 8 l H ₂ O	0	100		
Beret combi 40 WS	0,5 kg + 9,5 l H ₂ O	0	100	Iris	
Befran 25 % LS	2,5 l + 7,5 l H ₂ O	0,25	89,64		
SAN 764 F 30,25 FS	2 l + 8 l H ₂ O	0	100		
Foliárne ošetrovanie	na ha				
Alto 100 SL	2,4 l	0,075	96,96		
Impact C	1,5 l	0,1	95,89		
Score 250 EC	0,8 l	0,075	96,96		
Sportak PF	2 l	0	100		
Štatisticky významný rozdiel napadnutia klasov k \bar{x} $P_{0,05} = 0,36$ ks; $P_{0,01} = 0,49$ ks					

Holds for Tables II and III:

¹preparation - method of treatment; ²application rate; ³ \bar{x} infestation of ear; ⁴fungicidal effectiveness; ⁵variety; ⁶year; ⁷chemical treatment; ⁸foliar application; ⁹statistically significant difference of ear infestation to \bar{x} ; ⁹ per 1 tonne of seeds; ¹⁰ per ha

Baytan Combi 17,5 SC síce preukázal účinnosť, ale nie na požadovanej úrovni. Trimisem 10,5/1,5 SC proti mazľavke trpasličej neúčinkuje, načo poukazuje nepreukazný rozdiel v napadnutí rastlín pri porovnaní s kontrolou. Moridlo Q 5448 taktiež slabo účinkovalo, čo sa prejavilo na vysokopreukaznom rozdieli napadnutých klasov v porovnaní so Sibutolom 39,8 WS. Obdobne aj moridlo BF 51 90 WS slabo účinkovalo proti mazľavke trpasličej. Prejavilo sa to vysokopreukazným väčším napadnutím klasov v porovnaní na štandard. Značne rozkolísanú účinnosť vykázal prípravok Befran 25 % LS, ktorá v porovnaní so Sibutolom 39,8 WS bola vždy slabšia.

Výsledky s moridlom Dividend 30 WS poukazujú na jeho výraznú spoľahlivú účinnosť. Beret Combi 40 WS, i keď len pri slabej intenzite napadnutia, vykázal 100% účinnosť. To potvrdzuje, že difenoconazol je spoľahlivou účinnou látkou proti mazľavke trpasličej.

Prípravok Alto 40 WP v skúšanej dávke aplikovaný ako moridlo spôsobil zbrzdzenie vzchádzania asi o týždeň. Vzrútené rastliny boli silne retardované s fyto toxickým prejavom. Na jar došlo k redukovaniu počtu jedincov. Na rastlinách, ktoré ostali, bola zaznamenaná výrazne dobrá účinnosť. Cyproconazol upravený v moridle SAN 764 F 30,25 FS vykázal pri slabej intenzite napadnutia 100% účinnosť. Z ďalších skúšok bol však firmou stiahnutý.

Pri foliárnych postrekoch proti mazľavke trpasličej sme sa zamerali na dôkladné ošetrenie koleoptila rastlín, t. j. v čase úplného vzrútenia rastlín pri vytvorení 1-3 listov. Pre ošetrenie sme vybrali systémové prípravky zo skupiny účinkujúcej proti chorobám listov a klasov. Tecto 450 FW a Befran 25 LS vykázali relatívne slabšiu účinnosť. Výrazne pôsobil Sportak PF, Impact C, SAN 656 F 460 SC a Tilt CB 187,5 SC, i keď nie na požadovanej úrovni.

Foliárne ošetrenie prípravkom Score 250 EC vykázalo významnú až 100% účinnosť. Alto 100 SL v zvýšenej dávke až na 2,4 l/ha preukázal vysokú účinnosť, čo potvrdzuje, že ochrana foliárnou aplikáciou je možná. Znižovaním dávky klesala aj dosahovaná účinnosť, ktorá však nebola preukazne rozdielna. Foliárna aplikácia na vzrútený porast až v jarnom období sa taktiež prejavila účinne, čo dokumentujú výsledky z roku 1988/1989. Zároveň v tomto pokuse bolo sledované pôsobenie foliárnej aplikácie aj proti *Tilletia caries* (DC.) Tull. a *T. laevis* Kühn. Z výsledkov možno konštatovať, že skúšané prípravky vykázali slabú až nedostačujúcu účinnosť (tab. III).

Na variante s dezinfekciou pôdy dusíkatým vápnom Perlka, porast vovšetkých opakovaníach bol zjavne sýtejší vyfarbený. Fungicídny efekt však bol štatisticky vysokopreukazne slabý.

Z hľadiska sanitárneho sme odskúšali možnosť využitia tritikale Dagro. V danom pokuse nebolo zaznamenané napadnutie rastlín patogénom *Tilletia controversa*.

III. Fungicídna účinnosť prípravkov proti *Tilletia controversa*, resp. *Tilletia caries* a *Tilletia laevis* na pšenici ozimnej - Fungicidal effectiveness of preparates against *Tilletia controversa*, *Tilletia caries* and *Tilletia laevis*, respectively on winter wheat

Prípravok - spôsob ošetrovania ¹	Dávka ² na 1 ha	<i>Tilletia controversa</i>		<i>Tilletia caries</i> ; <i>Tilletia laevis</i>		Odroda ⁶	Rok ⁷
		\bar{x} napadnutie klasov ³ [m ⁻²]	fungicídna účinnosť ⁴ [%]	\bar{x} napadnutie klasov [m ⁻²]	fungicídna účinnosť [%]		
Foliárne ošetrovanie⁸							
Kontrola % napadnutia 29,79	-	177	-			Košútka	1987/1988
Alto 40 WP	0,6 kg	2,16	98,79				
Alto 40 WP	0,4 kg	3,50	98,05				
Alto 40 WP	0,2 kg	14,66	91,74				
Score 250 EC	0,6 l	2,16	98,79				
Score 250 EC	0,8 l	2,33	98,69				
Štatisticky významný rozdiel napadnutia klasov ⁹ k \bar{x} pre $P_{0,05} = 6,28$ ks; $P_{0,01} = 8,47$ ks							
Kontrola % napadnutia 2,66	-	9,33	-	-	-	Iris	1988/1989
Kontrola % napadnutia 8,58	-	-	-	30,06	-		
Alto 100 SL	2,4 l	0,66	93,23	13,66	54,54		
Alto 100 SL	1,6 l	1	89,47	14,33	52,33		
Alto 100 SL	0,8 l	3	68,04	20	33,44		
SAN 656 F 460 SC	0,5 l	2,66	71,42	18	39,04		
Score 250 EC	0,8 l	0	100	14,33	52,33		
Impact C	1,2 l	3	68,04	21,66	27,97		
Štatisticky významný rozdiel napadnutia klasov <i>T. controversa</i> k \bar{x} pre $P_{0,05} = 2,83$ ks; $P_{0,01} = 3,98$ ks <i>T. caries</i> et <i>T. laevis</i> k \bar{x} pre $P_{0,05} = 6,50$ ks; $P_{0,01} = 9,12$ ks							

DISKUSIA

Biológia huby *Tilletia controversa* je odlišná od biológie hub *T. caries* a *T. laevis*. Infekčné mycéliá klíčiacych spór pochádzajú predovšetkým z povrchu kontaminovanej pôdy, prerastajú cez koleoptilu vzchádzajúcich rastlín (P a u l e c h , 1967; L i š k a , 1981; H ý s e k , T e m p í r o v á , 1986). Tieto biotické podmienky u väčšiny skúšaných moridiel ovplyvňujú schopnosť pôsobiť aj proti *T. controversa*.

Kolisavosť intenzity výskytu choroby, ktorá sa prejavila aj v našich pokusoch, je v závislosti od klimatických podmienok, či sa po sejbe stretne na infekciu

vnímavé štádium hostiteľskej rastliny s infekcie schopným štádiom parazita (P a u l e c h , 1967). Obťažnosť riešenia ochrany proti *T. controversa* dokumentuje aj tá skutočnosť, že od roku 1983, kedy bol vydaný zákaz používania quintozeny, vznikla určitá medzera v ochrane pšeníc ozimných (F a n d l o v á , 1989). Povolením prípravku Sibutol 39,8 WS v roku 1986 sa toto vákuum síce čiastočne vyplnilo, ale viedlo to k jeho monopolnému postaveniu, nakoľko tekuté moridlo Vincit F (povolené až v roku 1989) vyžaduje špeciálnu moričku typu Rotostat. Účinnosť povolených moridiel je značne ovplyvňovaná aj schopnosťou zabezpečiť rovnomernosť rozdistribuovania moridiel po povrchu všetkých obiliek. Na prevažnej väčšine zabudovaných moričiek sa táto nevyhnutná požiadavka nedá zrealizovať. To spôsobuje, že aj sebelepšie moridlo nevykazuje v praxi požadovanú fungicídnu účinnosť.

Zo skúšaných moridiel väčšina má nevyhovujúcu účinnosť, čo potvrdzujú P o h l o v á a F a n d l o v á (1989). Relatívne spoľahlivé výsledky boli dosiahnuté prípravkom Sibutol 39,8 WS v dávke 2 kg/t (L i š k a , 1987; P o h l o v á a F a n d l o v á , 1989; F a n d l o v á , 1989). Rozkolísané výsledky preukázal Sibutol FS 398, čo má súvislosť so schopnosťou rovnomerne namoriť osivo tekutou úpravou moridla dostupnou technikou. Aj Vincit vykázal relatívne slabšiu účinnosť, i keď nie preukazne rozdielnu, v porovnaní s prípravkom Sibutol 39,8 WS (L i š k a , 1987, 1990). Dividend 30 WS vykázal spoľahlivú účinnosť (F a n d l o v á , 1990). Obdobne pôsobí aj Beret Combi 40 WS (M a i e r , 1990).

K zisťovaniu možnosti ochrany pšeníc ozimných proti *T. controversa* sme pristúpili aj s novou hypotézou cestou foliárnej aplikácie. Vychádzali sme z predpokladu, že rastliny v čase plného vzrúdenia sú relatívne najviac vnímavé na napadnutie parazitom lokalizovaným na povrchu pôdy v blízkosti koleoptily. Predpokladali sme, že foliárne aplikovaný prípravok v uvedenej fáze je z väčšej časti zachytávaný listovou plochou. Tak nepriamo dochádza k centralizovaniu postreku zatečením po obvode až ku styku s pôdou, čím sa dezinfikuje nadzemná časť rastlín. Zároveň systémovým pôsobením prenikajúcej a v rastline rozvádzanej účinnej látky aplikovaného prípravku sa rastliny chránia aj zvnútra. Podmienkou rozhodujúceho vplyvu na výsledok účinnosti foliárnej aplikácie vytypovanými prípravkami je rovnomernosť vzchádzania porastu a jeho kompletne ošetrenie.

Foliárne aplikovaný cyproconazol obsiahnutý v prípravku Alto 100 SL pri zvýšenej dávke až na 2,4 l, resp. 0,6 kg/ha dosiahol nepreukazne výraznejšiu účinnosť než moridlo Sibutol 39,8 WS (L i š k a , 1990). Taktiež výraznú až 100% účinnosť preukázal difenoconazol obsiahnutý v prípravku Score 250 EC (L i š k a , 1990). Pri výbere účinných látok pozoruhodnú účinnosť preukázali

aj Sportak PF, Impact C, Tilt CB 187,5 SC, i keď nie na požadovanej úrovni (L i š k a , 1987, 1990).

V pokusu z roku 1989, keď porast vzišiel až v jarnom období, foliárna aplikácia sa taktiež prejavila pozitívne proti *T. controversa*, ale proti *T. caries* a *T. laevis* je neúčinná (L i š k a , 1990).

Spoľahlivosť využitia tritikale Dagro, ako sanitárnej plodiny v zamorených oblastiach *T. controversa* i napriek tomu, že v našom pokusu nebol zistený pozitívny výskyt choroby, nie je zaručená. V á ň o v á , B e n a d a (1989) a B i t t n e r , T r č á l e k (1990) totiž zistili výskyty napadnutia tritikale mazľavkou trpasličou.

Dosiahnuté výsledky poukazujú na to, že zo širokého sortimentu odskúšaných moridiel okrem doposiaľ registrovaných, len Dividend 30 WS vykázal spoľahlivú účinnosť proti *T. controversa*. Bol navrhnutý na registráciu v dávke 2 kg/t, pričom spoľahlivo pôsobí aj na *T. caries* a *T. laevis*. Jeho povolením sa vhodne rozšíri možnosť výberu pre cieľnú ochranu, ktorá pri dodržaní kvality morenia je najracionálnejšia a ekonomicky najvýhodnejšia. Nový spôsob ochrany pšeníc ozimných cestou foliárnej aplikácie v štádiu vytvorenia 1-3 listov je možný s prípravkom Alto 100 SL v dávke 2,4 l/ha a Score 250 EC 0,8 l/ha. Domnievame sa, že pri zvýšených dávkach na úroveň Alta 100 SL, by došlo k výraznej účinnosti aj s účinnými látkami flutriafol, propiconazol, či prochloraz v kombinácii s carbendazimom. Rozhodujúca otázka je však v ekonomickej návratnosti, či účelnosti.

Literatúra

- BITTNER, V. - TRČÁLEK, Z.: Sneť zakrslá na tritikale. Ochr. Rostl., 26, 1990, č. 2, s. 158-160.
- FANDLOVÁ, M.: Skúsenosti s moridlami firmy Bayer proti mazľavkám na pšenici v podmienkach SSR. Zvláštne vydanie Kurýr 1989, č. 1, s. 10-11.
- FANDLOVÁ, M.: Dividend 30 WS v podmienkach Slovenska. In: Zbor. Predn. Symp. fy Ciba Geigy. S. Smokovec 1990, s. 139-145.
- HÝSEK, J. - TEMPÍROVÁ, Z.: K výzkumu sněti zakrslé. Úroda, 1986, č. 2, s. 55-56.
- LIŠKA, M.: Možnosti chemickej ochrany ozimnej pšenice proti mazľavke trpasličej (*Tilletia controversa*). Ochr. Rostl., 17, 1981, č. 1, s. 19-26.
- LIŠKA, M.: Výsledky skúšok s moridlami Vincit a Ferrax v podmienkach SSR. In: Zbor. Predn. Symp. fy ICI-PPD. Chlum u Třeboně, Nitra 1987, s. 249-263.
- LIŠKA, M.: Flutriafol a jeho využitie pri morení obilnín. In: Zbor. Predn. fy ICI - Pesticidní přípravky ICI Agrochemicals. 1990, s. 157-169.
- LIŠKA, M.: Skúsenosti s novou možnosťou chemickej ochrany oz. pšeníc proti mazľavke trpasličej. In: Zbor. Predn. Symp. fy Ciba Geigy. S. Smokovec 1990, s. 146-151.
- MAIER, T.: Moření osiva - stále významnejší opatření integrované ochrany rastlin. In: Zbor. Predn. Symp. fy Ciba Geigy. S. Smokovec 1990, s. 108-128.
- MORAČČÍK, E.: Rozšírenie mazľavky trpasličej v množiteľských oblastiach ozimnej pšenice na Slovensku. In: Pšenica. Poznatky z činnosti ÚKSÚP. Bratislava 1989, s. 80-84.

- MORAVČÍK, E. - LANÁK, J.: Choroby prenosné osivom a morenie osiva pšenice. Poľnohosp. Veda, Sér. A, 1976, č. 1, s. 157-169.
- PAULECH, C.: Výskyt mazľavej sneti na strednom a východnom Slovensku. Za vyš. Úrodu (Praha), 1957, č. 5, s. 403-404.
- PAULECH, C.: Rozšírenie zakrpacej sneti na strednom Slovensku. Poľnohospodárstvo, X, 1964, s. 747-755.
- PAULECH, C.: Štúdium vplyvu ekologických faktorov na výskyt zakrpacej sneti na pšenici. In: Souhrn Ref. a disk. Přísp. věd. Sem. Ekol. fytopat. Hub v ČSSR. Praha, 1967, s. 125-133.
- POHLOVÁ, L. - FANDLOVÁ, M.: Hospodársky významné choroby pšenice a boj proti nim. In: Pšenica. Poznanky z činnosti ÚKSÚP. Bratislava 1989, s. 76-79.
- VÁŇOVÁ, M. - BENADA, J.: Ochrana žita a tritikale proti škodlivým činiteľom. Úroda, 1989, s. 202-205.

Došlo dne 1.3.1991

*M. Liška (Central Agricultural Control and Testing Institute, Košice,
Czechoslovakia)*

The possibilities of winter wheat protection against dwarf smut of wheat

In trials performed with winter wheat varieties Vala, Hana, Košútka and Iris, the attention was paid to testing the efficiency of fungicides against *Tilletia controversa*, applied as a chemical treatment of seed and by a method of foliar application. Out of these disinfectants, a relatively reliable effectiveness was reached in Sibutol 39.8 WS, although the required level was not recorded in provocation conditions. This points to the fact that when equal distribution of this preparation on caryopses is not guaranteed, the required level of protection is not secured. Fluctuating results were reached with the liquid form of Sibutol FS 398. This makes significant the difficulties connected with the quality of chemical treatment carried out by liquid disinfectants and by the accessible technology. A relatively high effectiveness was recorded in Vincit, which was insignificantly lower when compared to Sibutol 39.8. In Ferrax even partly lower effectiveness was determined than in Vincit F. A significantly reliable effect was found out in Dividend 30 WS, at the application rate of 2 kg/t. Difenconazol contained in the Beret Combi 40 WS disinfectant confirmed reliability against *Tilletia controversa*. Baytan Combi 17.5 SC recorded only low effectiveness. In Trimisem 10.5/1.5 SC no effect on *T. controversa* was recorded which was apparent in the insignificant difference in comparison with the control. In the Q 5448 also only a low effect was determined in comparison with Sibutol 39.8 which was determined by the highly significant difference in the infected ears. Similar is the situation also in the BF 51 90 WS. Considerably

fluctuating results were reached in Befran 25 % LS. The spray substance Alto 40 WP applied in the tested application rates as a disinfectant caused strong retardation in plants, even their mortality. However, a significantly high level of effectiveness was observed. Cyproconazol treated in the disinfectant SAN 764 F 30.25 F reached 100 % effectiveness at a low intensity of infestation. The foliar application was based on the presumption that the plants at the time of full emergence (1 - 3 leaves) are relatively most sensitive to the infestation by the parasite located on the soil surface, near the coleoptile. These biotic conditions influence in most tested disinfectants the capacity to act also against *T. controversa*^a. We presumed that foliarly applied preparation will flow around the plant circumference to the contact point with soil; this way, the above ground parts of plants would be disinfected and through the system distribution of the active agent the plants would be protected also internally. The diseases of leaves and ears were selected for the treatment. Tecto 450 FW and Befran 25 LS had a relatively low level of effectiveness. A significant effect was recorded in Sportak PF, Impact C, SAN 656 F 460 C and Tilt CB 187.5 SC - however, not in the required level. In Score 250 EC, significant to the 100 % effectiveness was recorded. In Alto 100 SL at the application rate increased to 2.4 l/ha, high effectiveness was recorded. Foliar application on the emerged stand used during spring period (Table III) also proved effective. However, it is not effective against *T. caries* and *T. laevis*. Disinfection of soil by nitrogen calcium Perlka was determined as highly significantly low (Table IV), when applied in the control of *T. controversa*.

Tilletia controversa Kühn; disinfection of seed; foliar application

KRÁTKÁ SDĚLENÍ

NÁLEZ BAKTÉRIÍ *ERWINIA RHAPONTICI* NA HYACINTU V ČESKOSLOVENSKU

Blanka KOKOŠKOVÁ

Výzkumný ústav rostlinné výroby, 161 06 Praha - Ruzyně

Z nizozemské zásilky cibulí hyacintu (*Hyacinthus orientalis* L.), odrůdy Anna Marie, dodané podnikem Sady, lesy, zahradnictví v roce 1990, jsme obdrželi vzorek napadených cibulí s podezřením na výskyt původce žluté hniloby, *Xanthomonas campestris* pv. *hyacinthi* [(Wakker, 1983) Dye, 1988]. Abychom popsali příznaky choroby, určili patogena a charakterizovali ho, podrobili jsme cibule hyacintu bakteriologickým rozborům.

Materiál a metody

Suspenzi z rozdrčeného pletiva napadených cibulí hyacintu v sterilní vodě jsme roztřeli na masopeptonový agar a King B médium. Po přečištění jsme bakteriální kultury zařadili do různých diagnostických testů. Gramovo barvení vyloučilo grampozitivní bakterie, oxidačně fermentační test umožnil rozdělit aerobní a fakultativně anaerobní izoláty bakterií. Test oxidasy odlišil kmeny oxidasa negativní od oxidasa pozitivních, test pektolytické aktivity determinoval kmeny s protopektinase. Enterotesty I. a II. (Lachema, Brno) umožnily stanovit další biochemické vlastnosti izolátů.

Izoláty, které podle biochemických vlastností patřily k rodu *Erwinia*, jsme ověřovali v testu patogenity na 10 cibulích hyacintu odrůdy Anna Marie. Dvě cibule jsme ponechali jako kontrolní, jednu jsme inokulovali sterilní vodou, druhou izolátem *Erwinia carotovora* CCM 1008, osm cibulí jsme inokulovali izoláty předběžně určenými jako *Erwinia rhapontici* (*Er*₁ - *Er*₈). Bakteriální suspenzi v koncentraci 10⁷ cfu/ml jsme vpravili dovnitř cibule injekční stříkačkou. Cibule jsme pak umístili ve vlhké komoře s teplotou 26 °C a po dvou týdnech hodnotili stupeň napadení.

Výsledky

Příznaky - Napadené cibule se vyznačovaly žlutohnědými nekrotickými o velikosti asi 5 až 10 mm², umístěnými na vnitřních suknicích, nejčastěji v horní třetině cibule. Struktura napadeného pletiva byla jemná, ale ne rozměklá. Na průřezu cibulí se neobjevil sliz, jak bývá typické pro *Xanthomonas campestris* pv. *hyacinthi*.

Izolace a determinace bakterií - Při přenosu vodní suspenze na masopeptonový agar jsme získali téměř čisté kultury bakterií, které na médiu King B tvořily charakteristický růžový pigment. Oxidasa negativní izoláty jsme zařadili do oxidačně fermentačního testu. Vybrali jsme fakultativně anaerobní izoláty a podrobili je testu pektolytické aktivity. Některé z nich rozkládaly pletivo bramborových disků. Aktivní kmeny zbarvovaly macerované pletivo na spodu bramborových disků výrazně růžově. Po vyhodnocení

výsledků Enterotestů jsme naše izoláty určili jako *Erwinia rhapontici* [(Millard), Burkholder 1948].

Naše izoláty *Erwinia rhapontici* netvořily H₂S, indol, nerozkládaly lysin, ornithin, arginin, fenylalanin, ureu, nevyužívaly Tween 80, adonit, dulcit, sacharózu, tvořily acetoin (test VPT), využívaly Simmens citrát, manit, inosit, sorbit, malonát, eskulin, laktózu (test ONPG), celobiózu, rhamnózu, trehalózu a glukózu. Izoláty určené jako *Erwinia rhapontici* jsme inokulovali do cibulí hyacintu. Po 14 dnech od inokulace se objevily příznaky totožné s původním napadením. Z napadeného pletiva jsme získali reizoláty. Původní izoláty a reizoláty jsme zařadili do biochemických testů i do testu pektolytické aktivity a potvrdili jsme, že jsou totožné. Prokázali jsme tak, že napadení cibulí hyacintu je způsobeno baktériemi *Erwinia rhapontici*.

Charakteristika izolátů *Erwinia rhapontici* - Kolonie *Erwinia rhapontici* na masopeptonovém agaru byly bělavé, okrouhlé, hladké, vypouklé, rozplývavé, na King B médiu vylučovaly růžový pigment a po dvou až třech dnech při teplotě 26 °C na živném masopeptonovém agaru dosahovali velikosti 1 až 2 mm. Naše izoláty z hyacintu podle srovnání s literárními prameny odpovídaly popisům *Erwinia rhapontici* (D y e , 1969; B r a d b u r y , 1986; V e r đ o n c k et al., 1987). Od baktérií *Erwinia carotovora* se lišily tím, že způsobovaly jen slabou, pomalou a variabilní mokrou hnilobu bramborových disků v průběhu 72 hod (čtyř dní), zatímco baktérie *Erwinia carotovora* během jednoho dne. Jednotlivé izoláty se lišily ve schopnosti macerovat pletivo bramboru.

Diskuse

Erwinia rhapontici byla poprvé popsána u rebarbory (M i l l a r d , 1924), jako původce krčkové hniloby. R o b e r t s (1974) prokázal, že *Erwinia rhapontici* způsobuje diskolorizace pšeničných zrn. Také některé izoláty z jabloní (pupenů) a hrušní (korových lézí) byly identifikovány jako *Erwinia rhapontici* (S e l l w o o d , L e l l i o t , 1978). Někteří autoři se domnívají, že okruh hostitelů *Erwinia rhapontici* je širší než se dosud uvádí. Baktérie jsou pravděpodobně součástí epifytní mikroflóry.

Variabilita pektolytické aktivity je dána skutečností, že *Erwinia rhapontici* není schopna rozkládat pletivo brambor a jiné zeleniny při pH 7, ale jen v případě, že je pH nižší než tato hodnota (S e l l w o o d , L e l l i o t , 1978). Proto bylo nutné provést opakovaně test pektolytické aktivity za různých podmínek prostředí.

Výskyt baktérie *Erwinia rhapontici* byl prokázán v Izraeli, Velké Británii, Polsku, Kanadě, USA a pravděpodobně také v Norsku, Nizozemí, Austrálii a Malaisii (B r a d b u r y , 1986). Při dovozu cibulí hyacintu z oblastí, kde je choroba rozšířena, hrozí nebezpečí zavlečení baktérie do ČSFR. Přesná a rychlá determinace je proto nutnou podmínkou kontroly dováženého rostlinného materiálu. Podrobné diagnostické testy vyloučí možnost záměny s baktérií *Xanthomonas campestris* pv. *hyacinthi*, která je v ČSFR karanténním objektem.

L i t e r a t u r a

BRADBURY, J. F.: Guide to plant pathogenic bacteria. 1986, s. 87.

DYE, D. W.: A taxonomic study of genus *Erwinia*. II. The carotovora group. N. Z. J. Sci., 12, 1969, s. 81-97.

- MILLARD, W. A.: Crown rot of rhubarb. Bull. Univ. Leeds and Yorks. Counc. agric. Educ., 1924, č. 134.
- ROBERTS, P.: *Erwinia rhapontici* (Millard) Burkholder associated with pink grain of wheat. J. appl. Bact., 37, 1974, s. 353-358.
- SELLWOOD, J. E. - LELLIOT, R. A.: Internal browning of hyacinth caused by *Erwinia rhapontici*. Pl. Path., 27, 1978, s. 120-124.
- VERDONCK, L. - MERGAERT, J. - RIJCKAERT, C. - SWINGS, J. - KERSTERS, K. - De LEY, J.: Genus *Erwinia*: Numerical analysis of phenotypic features. Int. J. Syst. Bact., 1987, s. 4-18.

Došlo dne 15. 2. 1991

*B. Kokošková (Research Institute for Crop Production,
Praha - Ruzyně, Czechoslovakia)*

The appearance of *Erwinia rhapontici* on hyacinth in Czechoslovakia

From the consignment of the bulbs of hyacinth (*Hyacinthus orientalis* L.), Anna Marie variety, imported to the CSFR from the Netherlands we received the bulbs suspected from the infection by the bacteria *Xanthomonas campestris*. The infested bulbs were significant by yellow-brown necroses of the size of approximately 5 - 10 mm² located on inner skins, most frequently in the upper third part of the onion. The presence of pathogene was verified with the help of bacteriological analyses. From the infested tissues, gramnegative bacteria, facultatively anaerobic, oxidase-negative and pectolitically active, were isolated. On the King B medium they formed the characteristic pink pigment. They colored the bottom tissue of the macerated potato disks pink. After the evaluation of biochemical reactions the isolates were identified as *Erwinia rhapontici* (further only as *Er*). Our isolates *Er* did not form H₂S, indole, they did not decompose lysine, ornithine, arginine, phenyl-alanine, did not use Tween 80, adonitol, dulcitol, saccharose, they formed acetoin, utilized the Simmens citrate, manite, inosite, sorbitol, malonate, esculin, lactose, cellobiose, rhamnose, trehalose and glucose. Eight isolates of *Er* were verified in the test of pathogenicity on the bulbs of hyacinth of the Anna Marie variety. The bacterial suspension in the concentration of 10⁷ cfu/ml was injected into the bulbs by a syringe. The bulbs were then placed in a humid chamber at the temperature of 26 °C and after two weeks the disease intensity was evaluated. The symptoms of the disease after inoculation were congruent with those recorded in the naturally infected onions. The reisolations that were carried out were successful. The original isolates and reisolates were included in biochemical tests as well as in the test of pectolytic activity and their identity was confirmed. It was thereby proved that the infestation of the bulbs of hyacinth is caused by the bacteria of *Erwinia rhapontici* [(Millard) Burkholder 1948].

bulb of hyacinth (*Hyacinthus orientalis* L.); *Erwinia rhapontici*

AKTUALITY

A METHOD OF MONITORING THE BIOLOGICAL EFFECTIVENESS OF THE CONTROL OF THE COLORADO POTATO BEETLE DUE TO EXPERIMENTAL TREATMENT WITH THE MYCOINSECTICIDE BOVEROL

Olga DIRLBEKOVÁ, Martin JEDLIČKA¹, Jan DIRLBEK

Kubišova 12, 182 00 Praha 8, ¹Hájecká 1103, 253 01 Hostivice IV, Czechoslovakia

Colorado Potato Beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) has been, after having been brought to Europe, a dangerous potato pest in Europe. Its harmfulness is controlled by chemical treatments every year. The treatments require from the producers to expend large sums of money on one hand, and they have unfavorable impacts on the environment on the other (negative effects on the agrobioecosis, chemical purity of waters, threat of chemical residues in the food chain, etc.). An endeavor to reduce the excessive use of pesticide chemicals is also reflected in the treatments controlling the Colorado Potato Beetle (CPB) population, for microbial preparations - mycoinsecticides - are used to control the CPB.

In Czechoslovakia in this sector of plant protection, attention is paid to the use of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. to control the Colorado Potato Beetle. The technology of air-borne conidia of this entomopathogenic fungus was worked out on an industrial scale using liquid sporulating media in plastic fermenters (Chlebničková, Nesrsta, 1980). The mycopreparation Boverol, which contains air-borne conidia of the fungus *Beauveria bassiana* (titer 10^{10} per g, minimum germination of spores 70 %), has been given trademark no. 166 019 in Czechoslovakia. This preparation is to be used in plant protection to control the pests on the closed premises with growing agricultural crops or with stored farm products, or to control the insect pests in the field conditions, mainly to control the CPB in the potato crops.

The primary effects of Boverol on the insect are contact; the spores which have adhered to the surface of the host body begin to germinate in favorable conditions and they penetrate through the mycelium to the insect body. Dark to black spots appear at the places of the infection on the body surface of CPB larvae, the amounts of excrements become excessive, the activity of feeding and movement declines. The symptoms of infection are visible in the larvae in five to ten days in the field conditions, and in further five to fourteen days the larvae die. The infection and its course after Boverol treatment are related to the instar of CPB larvae and to their physiological condition, to the temperatures and moisture conditions in the potato growth.

As the results of CPB control effectiveness are rather variable if the mycoinsecticide is used alone, it is advantageous to use the combined treatment with the mycoinsecticide Boverol (1 kg per ha) and a reduced dose of insecticide. The reduced dose of insecticide induces immediately the stress and fast death of CPB larvae; the decrease of assimilation area which is caused by the feeding of CPB larvae during the incubation time is diminished when the mycoinsecticide is applied alone.

Boverol in Czechoslovakia was the first mycoinsecticide to be used in the field conditions to control the Colorado Potato Beetle. It was therefore necessary to work out and check an original method of monitoring and evaluating the biological effectiveness of this microbial preparation used to control the CPB in field conditions. This method was worked out and

checked in the years 1985-1990. A two-aspects evaluation was used: 1) evaluation of the effectiveness of the control of the most sensitive instar of CPB larvae (L_{1-2}), which are to be controlled by this treatment; 2) evaluation of the effectiveness of the control of the whole population of the pest.

Unification of the methods of monitoring and checking the biological effectiveness of mycopreparations applied to control various pests is one of the elementary conditions of correct interpretation and comparability of the results obtained at different workplaces and in different geographical regions.

Option of a plot and sectors of observation

In Czechoslovakia the occurrence and rate of occurrence of harmful factors are investigated according to uniform methods (D i r l b e k , 1972). In investigating the occurrence of Colorado Potato Beetles, emphasis is laid on determining the number of beetles of a wintering generation in the potato crop in spring, in the period of the maximum laying of eggs by pest females. It is usually at the time when the stalks of medium-late and late potato varieties reach the height of 15-20 cm. About a fifth of the potato field area is examined, usually in a chess-board pattern, attention is paid to the occurrence of the pest at the borders of the field. According to the per-hectare number of beetles of a wintering generation (the number of beetles multiplied by five), the rate of pest occurrence is determined, plots to be treated are picked out, plots to be chemically treated and plots with mycoinsecticide treatment are chosen.

The plots with medium to high rates of pest occurrence are chosen for the area treatment with mycoinsecticide.

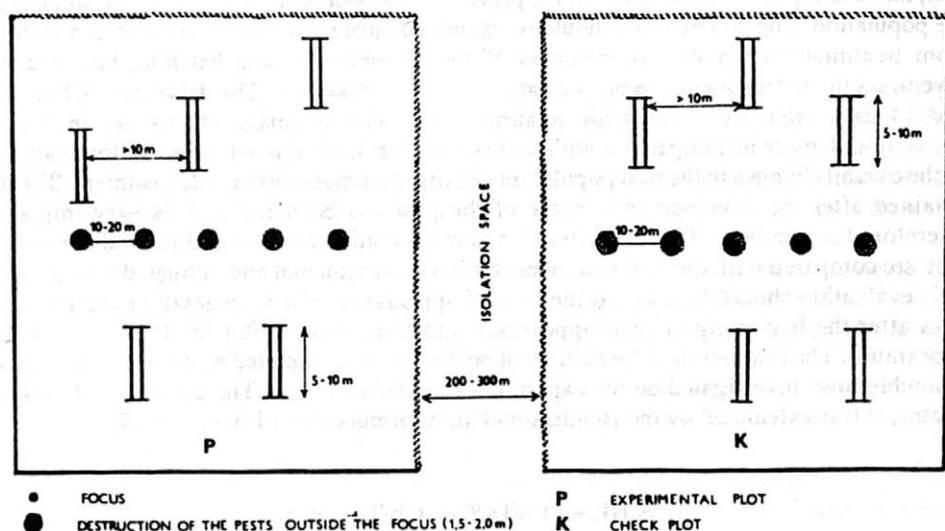
A scale of pest occurrence in spring:

- less than 100 beetles of wintering generation per hectare - low occurrence;
- 101-150 beetles of wintering generation per hectare - medium occurrence;
- 151-200 beetles of wintering generation per hectare - high occurrence;
- more than 200 beetles of wintering generation per hectare - very high occurrence.

On a given plot, it is necessary to demarcate certain sectors for the purposes of detailed investigation and evaluation when we want to determine experimentally the biological effectiveness of mycoinsecticides and to study the effectiveness of new combinations of mycoinsecticides and chemical insecticides, or other additives (different per hectare doses). The spatial sectors are divided in the sectors for a study of the biological effectiveness of treatment with respect to the control of the adult states and developmental stages of the pest, and in the sectors for the study of treatment effectiveness with respect to changes in the pest population. We pick out as experimental sectors the places with a natural occurrence of the pest. The crop is treated at the time of the maximum occurrence of 1st and 2nd instar larvae, which are the most sensitive to the mycoinsecticide Boverol.

To study the effectiveness of treatment, 4-5 foci with the natural occurrence of about 100 larvae at the stages of 1st and 2nd instars (L_{1-2}) are marked out. The foci are chosen at about the same distances from one another (10-12 m), and in the line perpendicular to the direction of sprinkler drive. The numbers of larvae must be regulated so that only L_{1-2} instars are left in the foci, the eggs, beetles and older larvae (L_{3-4}) are removed and destroyed. All instars on potato hills are destroyed at a distance of 1.5-2.0 m around the focus. In this way sufficiently high numbers of test individuals are provided on the plot to be treated (500 L_{1-2}) for monitoring the treatment effectiveness of the control of the most sensitive instars. The foci of L_{1-2} instars are marked out in the same way and with the same numbers on an untreated - check plot. Colored 1.5m staffs are usually used to mark out the foci.

Parallely with the investigation of the control of L_{1-2} instars due to treatment, the effectiveness of treatment with mycoinsecticide was studied with respect to changes in the density of pest population (scheme of the trial layout) - Fig. 1.



1. Schema of the trial layout

On the same plot where L_{1-2} foci are marked out, spatial sectors are also demarcated where the control of the Colorado Potato Beetle population due to treatment is investigated. At the places with the high concentrations of beetles, eggs and larvae, the sectors 5-10 m long are set out in two adjoining potato rows. The length of 5 to 10 m depends on the number of pest larvae. It is advantageous in a double row to observe the number of about 150-200 larvae and 100 eggs (i.e. ca. 3-4 egg groups). On the experimental plot and similarly on the check plot, 3-5 double rows are investigated. The adjoining double rows are at a minimum distance of 10 m from each other.

Terms of evaluation (observation) and method of evaluation

Working out of method of studying the biological effectiveness of the control of the CBP due to treatment with the mycoinsecticide Boverol, it was necessary to respect the practical conditions of treatment, the method had to be simple but exact enough (it had to stick to biological principles, including the cultural practices applied to the potato crop, specific features of pest development and spraying schedule of the control of the other harmful factors of potatoes) and it had to provide representative results. Determination of the term of biological effectiveness evaluation is of decisive importance from this point of view. Considering the experience with an evaluation of chemical control effectiveness, and the differences, characteristic features and results of biological control, the first evaluation was set on the seventh day after treatment, both for the foci of the pest and for double rows.

This term is decisive with respect to evaluating the biological effectiveness of the control of the most sensitive instar larvae (L_{1-2}), the result is a good characteristic of the control in the initial phase after treatment. It is the data unbiased by a error due to larvae boring into the soil

for pupation, it provides enough information for evaluating how to reduce the decrease in potato assimilation area after CPB larvae feeding and for assessing the economic effectiveness of the control due to treatment.

In double rows, the evaluation of the control due to treatment after seven days is biased by an error resulting from the boring of the 4th instar larvae into the soil for pupation. Nevertheless, the data represent a reduction in the prevailing number of the 1st and 2nd instar larvae in the population. The double rows should be examined once more after a week (after a fortnight from treatment) when the effectiveness of the control of young hatching larvae due to mycoinsecticide treatment can be evaluated only after treatment. The data collected in seven and 14 days after mycoinsecticide treatment gives certain image of changes in the pest population density in comparison with untreated control, but it is not decisive for evaluation of the overall changes in the pest population density after mycoinsecticide treatment. The data obtained after the developmental cycle of the pest has been finished, is very important. Therefore the numbers of CPB beetles of a new generation are assessed in double rows and they are compared with the initial numbers both on experimental and untreated (check) plots. This evaluation should be made at the time of appearance of new-generation beetles: seven days after the beginning of their appearance and three weeks after the beginning of their appearance. The evaluation of the number of beetles can be completed by the numbers of larvae in double rows investigated on the experimental and check plots. The percent control due to treatment was calculated by the Henderson-Tilton formula (D i r l b e k , 1988)

$$\% BE = (1 - Ta/Ca \cdot Cb/Tb) \cdot 100$$

where: BE - biological effectiveness

Ta - the number of individuals collected from the test plot after treatment

Ca - the number of individuals collected from the check plot after treatment of the test plot

Tb - the number of individuals collected from the test plot before treatment

Cb - the number of individuals collected from the check plot before treatment

If the trial was established carefully (double rows were picked out carefully), the bias of the results due to the creeping over of larvae and beetles would be negligible. We must take into account, however, that if the crop is infected with late blight of potato, the evaluation must be finished sooner than the pest beetles begin to search intensively for food and before they concentrate at the places with green leaves.

Characteristics of potato crop treatment with Boverol to control the Colorado Potato Beetle

In Czechoslovakia, sprinklers of the ORC 1001-3 - Sleza 3 type are currently used for pesticide treatment of the field cultures. This machine can also be used for areal treatment with the mycoinsecticide Boverol (the boom is equipped with the Albuz red nozzles). The working pressure of the sprinkler is 0.6 Mpa, basal per-hectare dose of Boverol is 1000 g in 300-400 liters of water (water suspension). The mycoinsecticide Boverol is a white powder containing air-borne spores (conidia) of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. The basal rate of the biological preparation is 10^{13} germinating spores per hectare. In order to provide for the steady results of the control of the CPB due to Boverol treatment, it is recommendable to use Boverol in combination with a chemical insecticide (combined treatment with Boverol and reduced rate of insecticide). The kind and application rate (per-hectare dose) of the chemical insecticide should be selected, in view of the strategy of integrated plant protection, according to the actual population density of the pest, expected

weather conditions at the time of treatment and the infection (D i r l b e k o v á , 1986). It is without fail necessary that the practical treatment will be controlled by a specialist in biological pest control (D i r l b e k , 1986), who is also responsible for the timely signalization of a treatment term. When the treatment is at an untimely term, the biological effectiveness is reduced - if it is performed 3-5 days sooner or later than in the optimum term, the effectiveness is reduced by 15 to 30 % (D i r l b e k et al., 1986).

References

- DIRLBEK, J.: Möglichkeit der Verwertung der neuen Methode zur Schätzung der Intensität des Vorkommens des Kartoffelkäfers (*Leptinotarsa decemlineata* Say) für die Signalisierung der chemischen Bekämpfungsmassnahmen. In: Věd. Práce VÚRV, 16, 1972 : 37-44.
- DIRLBEK, J.: Informační modul pro řízení ochranných zásahů proti mandelince bramborové. In: Sbor. Mykopreparáty československé výroby a jejich využití v ochraně rostlin. Praha - Ruzyně, VÚRV 18.XI. 1986 : 41-45.
- DIRLBEK, J.: Prognóza a signalizace v ochraně rostlin (Řízení chemických a biologických ochranných zásahů podle prognózy a signalizace). Praha - Ruzyně, VÚRV 1988 : 162 p.
- DIRLBEK, J. - DIRLBEKOVÁ, O. - KYBAL, J.: Význam odborného řízení biologické ochrany proti mandelince bramborové. Agrochémia, 26, 1986 : 291-294.
- DIRLBEKOVÁ, O.: Výsledky z ověřování účinnosti vývojového mykoinsekticidu Boverol proti mandelince bramborové. In: Sbor. Mykopreparáty československé výroby a jejich využití v ochraně rostlin. Praha - Ruzyně, VÚRV 18.XI. 1986 : 36-40.
- CHLEBNÍČKOVÁ, M. - NESRSTA, M.: Současný stav a výhledy průmyslové přípravy Boverolu. In: Sbor. Mykopreparáty československé výroby a jejich využití v ochraně rostlin. Praha - Ruzyně, VÚRV 18.XI. 1986 : 28-30.

Metodika zjišťování biologické účinnosti mykoinsekticidu Boverol při pokusech s plošnou aplikací proti mandelince bramborové (*Leptinotarsa decemlineata* Say)

Sjednocení metod zjišťování a ověřování biologické účinnosti mykopreparátů proti jednotlivým škůdcům je jednou ze základních podmínek správné interpretace a srovnatelnosti výsledků dosažených na různých pracovištích a v různých geografických oblastech. Metodika zjišťování biologické účinnosti mykoinsekticidu Boverol při pokusech s plošnou aplikací proti mandelince bramborové v sobě zahrnuje dvě kritéria hodnocení. Jednak hodnocení účinnosti ošetření na vývojové stupně larev škůdce, proti nimž je ochranné opatření zaměřeno (směřováno, cíleno) z ekonomického hlediska, jednak hodnocení účinnosti ošetření na snížení celkové populace škůdce z hlediska ekologického (regrese následné populace).

MOLEKULÁRNE ASPEKTY PATOGENITY *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS*

Zuzana STARKBAUEROVÁ, Antónia ŠROBÁROVÁ

Ústav experimentálnej fytopatológie a entomológie SAV, 900 28 Ivanka pri Dunaji

Moderné metódy genetického inžinierstva rastlín využívajú fytopatogénnu baktériu *Agrobacterium tumefaciens* a v nej obsiahnutý Ti-plazmid, časť genómu, ktorý sa môže začleniť do jadrového genómu rastlinnej bunky.

Virulencia agrobaktérií a jej prenos

Už viac ako desaťročie je známe, že pri teplotách vyšších (37 °C) ako je optimálna kultivačná teplota (29 °C), je schopnosť baktérií *A. tumefaciens* tvoriť nádory ireverzibilne stratená. Uskotočil sa prenos virulencie *in planta* z patogénnych baktérií *Agrobacterium* sp. do nepatogénnych baktérií *A. radiobacter*. Z toho sa usudzovalo, že za nádorovitosť je zodpovedný mimochromozomálny prvok. Ďalšie pokusy potvrdili, že skutočne ide o extrachromozomálny determinant virulencie - veľký plazmid, ktorý bol nazvaný Ti (tumour inducing) plazmid (O n d ř e j, 1985; H o o y k a s, 1989a).

Pri procese indukcie tumoru sa hľadala odpoveď na otázku, ktoré gény sú zodpovedné za prenos T-DNA z Ti-plazmidu *A. tumefaciens* do rastlinnej bunky. Žiaden z génov T-DNA nevlplyva na prenos tejto T-DNA (H o o y k a s, 1989a,b). Pre transformáciu rastlín agrobaktériami sú potrebné tri genetické prvky: chromozomálne gény virulencie (D o u g l a s et al., 1985), gény virulencie (*vir* gény) na Ti-plazmide (S t a c h e l, N e s t e r, 1986) a hraničné sekvencie T-DNA (T-DNA borders) (W a n g et al., 1987).

Chromozomálne gény virulencie

Chromozomálne gény virulencie (*chv* gény) nemajú, podobne ako gény virulencie (*vir* gény) na Ti-plazmide, onkogénnu funkciu. Chromozomálne gény virulencie sú však, popri *vir* génoch, nevyhnutné pri *in vivo* prenose T-DNA do rastlinných buniek pomocou agrobaktérií. D o u g l a s et al. (1985) poukázali na význam génov *chvA* a *chvB* pri uchytení sa agrobaktérií na rastlinnú bunkovú stenu. Gén *chvB* kóduje bielkovinu, ktorá je dôležitá pri tvorbe cyklického β -1,2 glukanu (Z o r r e g u i e t a et al., 1988). Gén *chvA* determinuje transportné bielkoviny, ktoré sú umiestnené na vnútornej membráne baktérie a sú potrebné k prenosu β -1,2 glukanu do periplazmy. Naproti tomu prídavok β -1,2 glukanu pri infikovaní rastlín s takto mutovaným génom *chv* sám osebe nespôsobil vytvorenie tumoru (C a n g e l o s i et al., 1989). Mutácie iného chromozomálneho génu virulencie (*pscA*, alebo *exoC*) rovnako vedú k tomu, že agrobaktérie β -1,2 glukán netvorí (T h o m a s h o w et al., 1987). Pri skúmaní úlohy génu *chvB* H a w e s a P u e p p k e (1989) potvrdili pozitívnu koreláciu medzi schopnosťou agrobaktérií viazať sa na bunkovú stenu rastlín a virulenciou (schopnosťou vytvoriť tumor). Vyslovili hypotézu o existencii viac než jedného typu väzby k rastlinným bunkám. Typ tejto väzby môže, no nemusí viesť k transformácii rastliny.

Tieto *chv* gény sú zodpovedné aj za tvorbu celulózových vlákien (β -1,4 glukán), čo v niektorých prípadoch má vplyv na zvýšenie účinnosti indukcie tumoru (M a t t h y s s e, 1987). B e c k v o n B o d m a n et al., (1989) zistili, že gén *chvB* nemá vplyv na konjugáciu Ti-plazmidu.

Gény zodpovedné za onkogenitu a tvorbu opínov

Zásadne nová etapa z hľadiska využitia bakteriálnych plazmidov v genetickom inžinierstve nastala, keď sa dokázalo, že časť Ti-plazmidu sa integruje do genómu rastlín (O n d ř e j , 1985). Za premenu rastlinných buniek na bunky tumoru sú zodpovedné tri gény, ktoré sa nachádzajú na T-DNA a nazývajú sa gény *onc* (Y a n g , 1985). Tieto gény kódujú enzýmy, ktoré sa zúčastňujú na tvorbe fytohormónov. Gén *ipt*, *cyt* alebo *tmr* kóduje izopentenyl-transferázu - enzým, ktorý katalyzuje konverziu AMP na izopentenyl-AMP (zlúčeninu s cytokinínovou aktivitou). Ďalšie dva gény *onc*, ktoré sa nazývajú *aux-1*, *tms-1* alebo *iaaM* a *aux-2*, *tms-2* alebo *iaaH*, kódujú enzýmy monooxygenázu a hydrolázu, ktoré spolu katalyzujú premenu tryptofánu cez indolacetamid na kyselinu indolactovú, zlúčeninu s auxínovou aktivitou. Takto si možno vysvetliť, prečo introdukcia T-DNA vedie k neobmedzenej proliferácii transformovaných buniek na infikovanej rastline. Bunkové pletivá baktériovej nádorovitosti preto nevyžadujú prídavok fytohormónov do pôdy pri raste *in vitro* (H o o y k a a s , 1989a). Okrem týchto troch génov obsahuje Ti T-DNA prinajmenej ešte jeden gén, nazývaný tiež gén *6b*, ktorý sa uplatňuje len na niektorých rastlinných druhoch, napr. *Nicotiana glauca* (H o o y k a a s et al., 1988). Najnovšie sa zistilo, že gény *6b* sú u *A. tumefaciens* kmeňovo špecifické a ovplyvňujú aktivitu génov, zodpovedných za tvorbu auxínu aj cytokinínu (T i n l a n d et al., 1989).

Pletivá buniek baktériovej nádorovitosti sa vyznačujú prítomnosťou opínov. Opíny sú zlúčeniny najčastejšie aminokyselín s cukrami ako je pyruvát a α -ketoglutarát, syntetizované enzýmami, ktoré sú prítomné v bunkách baktériovej nádorovitosti. Gény pre syntézu opínov sa do genómu rastlinných buniek včleňujú s T-DNA. Podľa Ti (resp. Ri) plazmidu použitého kmeňa agrobaktérie sa tvoria v infikovaných bunkách rôzne typy opínov (H o o y k a a s , 1989a; M e s s e n s et al., 1985 a inf). Tak rozoznávame oktopinové, nopalínové, succinamopínové a leucinopínové Ti-plazmidy, ako aj agropinové, mannopínové Ri-plazmidy. Naposledy sa zistila štruktúra ďalšieho opínu - mikimopínu v Ri-plazmide (I s o g a i et al., 1988). Opíny môžu byť utilizované tumor indikujúcimi agrobaktériami ako výhradný zdroj uhlíka, dusíka a energie, pretože sa na ich Ti-plazmidoch nachádzajú inducibilné gény pre katabolizmus opínov (O n d ř e j , 1985; H o o y k a a s , 1989b). Opíny neindikujú iba horeuvedené katabolické gény, ale tiež konjugatívne, transferové (*tra*) gény na týchto plazmidoch. To má za následok rozšírenie Ti (Ri) plazmidov v bakteriálnej populácii, nachádzajúcej sa v tkanive nádora (H o o y k a a s , 1989b). Niektoré z opínov simulujú indukciu génov virulencie a tak môžu zohrávať určitú úlohu v procese tumorogenézy. To by znamenalo, že genetická regulácia aktivity génov virulencie a funkcií, kontrolovaných opínmi je vzájomne prepojená (V e l u t h a m b i et al., 1989).

Oblasť *vir* génov má veľkosť okolo 40 kilobáz (kb) a v prípade oktopinového Ti-plazmidu obsahuje sedem operónov, ktoré sú označené podľa abecedy (*virA* - *virG*). Sú regulované a tvoria regulón (H o o y k a a s , 1989a; S t a c h e l , N e s t e r , 1986; S t a c h e l , Z a m b r y s k i , 1986). U oktopinového (ale nie u nopalínového) Ti-plazmidu je prítomný gén, nazývaný *virF*. Tento gén, kódujúci bielkovinu 22,4 kDa, je indukovateľný aceto-syringónom a je súčasťou *vir* regulónu (H o o y k a a s , 1989a; M e l c h e r s et al., 1990).

Operóny *virA* a *virG* obsahujú jeden gén, operóny *virC* a *virE* dva gény, operón *virD* obsahuje štyri gény a *virB* operón jedenásť génov. Štyri z týchto operónov (*virA*, *virB*, *virD*, *virG*) sú nevyhnutne potrebné na indukciu tumoru. Mutáciou v ktoromkoľvek z ostatných operónov sa získajú kmene agrobaktérií, ktoré majú buď zníženú virulenciu, alebo sú schopné vyvolať tumor na zmenšenom počte hostiteľov (H o o y k a a s , 1989a). Bielkoviny, ktoré sú kódované génmi *virB*, sa začleňujú do membrány, alebo do periplazmy (T h o m p s o n et al., 1988; W a r d et al., 1988). Tieto bielkoviny sú nepostrádateľné pri prenose T-DNA, z čoho sa usudzuje, že by mohli vytvárať fyzikálnu štruktúru, umožňujúcu prenos T-DNA. Gény *vir*

môžu mať rozhodujúci vplyv na to, ktoré kmene agrobaktérií a aký počet hostiteľských rastlín sú schopné transformovať, resp. na účinnosti prenosu T-DNA. Tak sa napríklad dokázalo, že gén *virF* je nevyhnutný pre indukciu tumoru na *Nicotiana glauca*. Nopalínové kmene v porovnaní s oktopinovými sú tu málo onkogénne, ale introdukciou génu *virF* z oktopinového sa nopalínový kmeň *A. tumefaciens* stal plne onkogénnym na *N. glauca* (M e l c h e r s et al., 1990). Naopak, nopalínový, ale nie oktopinový, plazmid má gén *tzs*, kódujúci bielkovinu podobnú izopentenyltransferáze, ktorá je kódovaná génom *ipt*, prítomnom na T oblasti a zúčastňuje sa na tvorbe a sekrécii (vylučovaní) trans-zeatínu hostiteľskou baktériou. Gén *tzs* je možné indukovať acetosyringónom, a preto tvorí časť *vir* regulónu (P o w e l l et al., 1988).

Regulácia génov virulencie

Expresia génov *vir* je regulovaná počas indukcie agrobaktérií v prítomnosti rastlinných buniek s nimi produkovanými, alebo čistými rastlinnými signálnymi molekulami, ako je acetosyringón a α -hydroxyacetosyringón (S t a c h e l et al., 1985). Výnimku tvoria gény *virA* a *virG*, ktoré sa prepisujú počas vegetatívneho rastu v hostiteľskej baktérii, hoci gény *virG* sú indukované s väčšou účinnosťou v prítomnosti uvedených rastlinných fenolov (S t a c h e l , Z a m b r y s k i , 1986). Fenolické látky sa uvoľňujú z rastlinného tkaniva zvlášť po poškodení, o ktorom sa dlhší čas vedelo, že je nevyhnutnou podmienkou ("conditio sine qua non") pre tumorogénu rastlín agrobaktériou. Okrem acetosyringónu a α -hydroxyacetosyringónu, ktoré sa považujú za najsilnejšie induktory, sú známe aj iné fenolické zlúčeniny, pôsobiace ako induktory génov virulencie. Sú to prekurzory lignínu, ako je koniferylalkohol a kyselina sinapiniková (S p e n c e r , T o w e r s , 1988; M e l c h e r s et al., 1989). Tiež flavonoidy, známe ako induktory *nod* génov môžu pri baktériách rodu *Rhizobium* pôsobiť ako induktory génov *vir* (Z e r b a c k et al., 1989).

Opíny stimulujú indukciu génov *vir* Ti-plazmidu *A. tumefaciens*. Stimulácia aktivity génov *vir* je v tomto prípade závislá na prítomnosti acetosyringónu (V e l u t h a m b i et al., 1989).

Dve bielkoviny, kódované oblasťou virulencie, t. j. VirA a VirG, sú sprostredkovateľmi aktivácie ostatných génov *vir* v prítomnosti fenolických zlúčenín (induktorov) (S t a c h e l , Z a m b r y s k i , 1986).

Údaje získané pri štúdiu systémov NtrB-NtrC (K e e n e r , K u s t u , 1988; W e i s s , M a g a s a n i k , 1988), EnvZ-OmpR (I g o e t al., 1989) a CheA-CheY (H e s s et al., 1988) ukázali, že senzorová bielkovina sa môže stať fosforylovanou a potom môže pôsobiť ako špecifická proteínkináza pre doprevádzajúcu aktivačnú bielkovinu.

Bielkovina VirA je prítomná vo vnútornej bakteriálnej membráne (L e r o u x et al., 1987; M e l c h e r s et al., 1987), preto je vo vhodnej pozícii, aby mohla priamo zachytiť fenolické zlúčeniny. Acetosyringón je relatívne hydrofóbná zlúčenina, mohla by (podobne ako flavonoidy) preniknúť membránou baktérií (R e c o u r t et al., 1989) a dostať sa do kontaktu s aminokyselinami bielkoviny VirA v receptorovej oblasti TM2. Za predpokladu, že by sa bielkovina VirA dostala do kontaktu s acetosyringónom, mohla by, ako uvádza H o o y k a a s (1989a), začať pôsobiť ako kináza bielkoviny VirG, ktorá by po svojej fosforylácii bola schopná sa viazať na špecifické sekvencie promótorov *vir*. Takto aktivovaná aktivačná bielkovina VirG môže potom pôsobiť ako pozitívny regulátor promótorov *vir*, čo vedie k expresii *vir* génov v prítomnosti rastlinných fenolov.

L i t e r a t ú r a

BECK von BODMAN, S. - McCUTCHAN, J. E. - FARRAND, S. K.: Characterization of conjugal transfer functions of *Agrobacterium tumefaciens* Ti plasmid pTiC58. J. Bacteriol., 171, 1989, s. 5281-5289.

- CANGELOSI, G. A. - MARTINETTI, G. - LEIGH, J. A. - LEE, C. C. - THEINES, C. - NESTER, E. W.: Role of *Agrobacterium tumefaciens* ChvA protein in export of β -1,2 glucan. *J. Bacteriol.*, *171*, 1989, s. 1609-1615.
- DOUGLAS, C. J. - STANTELONI, R. J. - RUBIN, R. A. - NESTER, E. W.: Identification and genetic analysis of *Agrobacterium tumefaciens* chromosomal virulence region. *J. Bacteriol.*, *161*, 1985, s. 850-860.
- HAWES, M. C. - PEUPPKE, S. G.: Variation in binding and virulence of *Agrobacterium tumefaciens* chromosomal virulence (chv) mutant bacteria on different plant species. *Pl. Physiol.*, *91*, 1989, s. 113-118.
- HESS, J. F. - OOSAWA, K. - KAPLAN, N. - SIMON, M. I.: Phosphorylation of three proteins in the signalling pathway of bacterial chemotaxis. *Cell*, *53*, 1988, s. 79-87.
- HOOYKAAS, P. J. J.: Tumorigenicity of *Agrobacterium* on plants. In: HOPWOOD, D. A. - CHATER, K. F. (Eds): Genetics of bacterial diversity. London, San Diego, New York, Berkeley, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto, Academic Press 1989a, s. 373-391.
- HOOYKAAS, P. J. J.: Transformation of plant cells via *Agrobacterium*. *Pl. Mol. Biol.*, *13*, 1989b, s. 327-336.
- HOOYKAAS, P. J. J. - DULK-RAS, H. den - SCHILPEROORT, R. A.: The *Agrobacterium tumefaciens* T-DNA gene *6b* is an *onc* gene. *Pl. Mol. Biol.*, *11*, 1988, s. 791-794.
- IGO, M. M. - NINFA, A. J. - SILHAVY, T. J.: A bacterial environmental sensor that functions as a protein kinase and stimulates transcriptional activation. *Genes & Devel.*, *3*, 1989, s. 598-605.
- ISOGAI, A. - FUKUCHI, N. - HAYASHI, M. - KAMADA, H. - HARADA, H. - SUZUKI, A.: Structure of a new opine mikimopine, in hairy root induced by *Agrobacterium rhizogenes*. *Agric. Biol. Chem.*, *52*, 1988, s. 3235-3237.
- KEENER, J. - KUSTU, S.: Protein kinase and phosphoprotein phosphatase activities of nitrogen regulatory proteins NTRB and NTRC of enteric bacteria: roles of the conserved amino-terminal domain of NTRC. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *85*, 1988, s. 4976-4980.
- LEROUX, B. - YANOFSKY, M. F. - WINANS, S. C. - WARD, J. E. - ZIEGLER, S. F. - NESTER, E. W.: Characterization of the *virA* locus of *Agrobacterium tumefaciens*: a transcriptional regulator and host range determinant. *EMBO J.*, *6*, 1987, s. 849-856.
- MATTHYSSE, A. G.: Characterization of nonattaching mutants of *Agrobacterium tumefaciens*. *J. Bacteriol.*, *169*, 1987, s. 313-323.
- MELCHERS, L. S. - THOMPSON, D. V. - IDLER, K. D. - NEUTEBOOM, S. T. C. - MAAGD, R. A. de - HOOYKAAS, P. J. J.: Molecular characterization of the virulence gene *virA* locus of the *Agrobacterium tumefaciens* octopine Ti plasmid. *Pl. Mol. Biol.*, *9*, 1987, s. 635-645.
- MELCHERS, L. S. - MARONEY, M. J. - DULK-RAS, A. den - THOMPSON, D. V. - VUUREN, H. A. J. van - SCHILPEROORT, R. A. - HOOYKAAS, P. J. J.: Octopine and nopaline strains of *Agrobacterium tumefaciens* differ in virulence; molecular characterization of the *virF*-locus. *Pl. Mol. Biol.*, *14*, 1990, s. 249-260.
- MELCHERS, L. S. - REGENSBURG-TUINK, T. J. G. - BOURRET, R. B. - SEDEE, N. J. A. - SCHILPEROORT, R. A. - HOOYKAAS, P. J. J.: Membrane topology and functional analysis of the sensory protein *VirA* of *Agrobacterium tumefaciens*. *EMBO J.*, *8*, 1989, s. 1919-1925.
- MESSENS, E. - LENAERTS, A. - MONTAGU, M. van - HEDGES, R. W.: Genetic basis for opine secretion from crown gall tumour cells. *Mol. Gen. Genet.*, *199*, 1985, s. 344-348.
- ONDŘEJ, M.: Cytogenetika a molekulární genetika rostlin. Praha, Academia 1985, s. 120-146.
- POWELL, G. K. - HOMMES, N. G. - KUO, J. - CASTLE, L. A. - MORRIS, R. O.: Inducible expression of cytokinin biosynthesis in *Agrobacterium tumefaciens* by plant phenolics. *Mol. Pl.-Microbe Interact.*, *1*, 1988, s. 235-242.
- RECOURT, K. - BRUSSEL, A. A. N. van - DRIESSEN, A. J. M. - LUGTENBERG, B. J. J.: Accumulation of a nod gene inducer, the flavonoid naringenin, in the cytoplasmic membrane of

- Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* is caused by the pH-dependent hydrophobicity of naringenin. J. Bacteriol., 171, 1989, s. 4370-4377.
- SPENCER, P. A. - TOWERS, G. H. N.: Specificity of signal compounds detected by *Agrobacterium tumefaciens*. Phytochemistry, 27, 1988, s. 2781-2785.
- STACHEL, S. E. - NESTER, E. W.: The genetic and transcriptional organization of the *vir* region of the A6 Ti plasmid of *Agrobacterium tumefaciens*. EMBO J., 5, 1986, s. 1445-1454.
- STACHEL, S. E. - ZAMBRYSKI, P. C.: *virA* and *virG* control the plant-induced activation of the T-DNA transfer process of *Agrobacterium tumefaciens*. Cell, 46, 1986, s. 325-333.
- STACHEL, S. E. - MESSENS, E. - MONTAGU, M. van - ZAMBRYSKI, P.: Identification of the signal molecules produced by wounded plant cells that activate T-DNA transfer in *Agrobacterium tumefaciens*. Nature, 318, 1985, s. 624-629.
- THOMASHOW, M. F. - KARLINSEY, J. E. - MARKS, J. R. - HULBERT, R. E.: Identification of new virulence locus in *Agrobacterium tumefaciens* that affects polysaccharide composition and plant cell attachment. J. Bacteriol., 169, 1987, s. 3209-3216.
- THOMPSON, D. V. - MELCHERS, L. S. - IDLER, K. B. - SCHILPEROORT, R. A. - HOOYKAAS, P. J. J.: Analysis of the complete nucleotide sequence of the *Agrobacterium tumefaciens* *virB* operon. Nucleic Acids Res., 16, 1988, s. 4621-4636.
- TINLAND, B. - HUSS, B. - PAULUS, F. - BONNARD, G. - OTTEN, L.: *Agrobacterium-tumefaciens 6b* - genes are strain-specific and affect the activity of auxin as well as cytokinin genes. Mol. Gen. Genet., 219, 1989, s. 217-224.
- VELUTHAMBI, K. - KRISHNAN, M. - GOULD, J. H. - SMITH, R. H. - GELVIN, S. B.: Opines stimulate induction of the *vir* genes of *Agrobacterium tumefaciens* Ti plasmid. J. Bacteriol., 171, 1989, s. 3696-3703.
- WANG, K. - GENETELLO, CH. - MONTAGU, M. van - ZAMBRYSKI, P. C.: Sequence context of the T-DNA border repeat element determines its relative activity during T-DNA transfer to plant cells. Mol. Gen. Genet., 210, 1987, s. 338-346.
- WARD, J. E. - AKIYOSHI, D. E. - REGIER, D. - DATTA, A. - GORDON, M. P. - NESTER, E. W.: Characterization of the *virB* operon from an *Agrobacterium tumefaciens* Ti plasmid. J. Biol. Chem., 263, 1988, s. 5804-5814.
- WEISS, V. - MAGASANIK, B.: Phosphorylation of nitrogen regulator I (NRI) of *Escherichia coli*. In: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, 1988, s. 8919-8923.
- YANG, N. Y.: *Agrobacterium T-DNA* oncogenes encode plant growth regulators: are there cellular homologues in plants? Trends Biotechnol., 3, 1985, s. 297-299.
- ZBRACK, R. - DRESSLER, K. - HESS, H.: Flavonoid compounds from pollen and stigma of *Petunia hybrida*: inducers of the *vir* region of the *Agrobacterium tumefaciens* Ti plasmid. Pl. Sci., 62, 1989, s. 83-91.
- ZORREGUIETA, A. - GEREMIA, R. A. - CAVAIGNAC, S. - CANGELOSI, G. A. - NESTER, E. W. - UGLADE, R. A.: Identification of the product of an *Agrobacterium tumefaciens* chromosomal virulence gene. Mol. Pl.-Microbe Interact., 1, 1988, s. 121-127.

Molecular aspects of the *Agrobacterium tumefaciens* pathogenity

The findings on the transfer of genetic information through the help of the *Agrobacterium tumefaciens*, on the conditions of such transfer and properties of the different parts of genome are summarized in the study.

INFORMACE

Bude náš časopis sledován v Current Contents ?

Touhou každého vydavatele je, aby jím vydávaný vědecký časopis byl zařazen do Current Contents (CC), Science Citation Index (SCI) a dalších služeb poskytovaných ISI (Institute for Scientific Information) ve Philadelphii. Požadavky kladené ISI při výběru časopisů upřesnil před časem pracovník tohoto ústavu, E. G a r f i e l d , v bulletinu Current Comments (č. 22, 1990).

Při hodnocení uvažovaného časopisu se berou v úvahu v zásadě tři typy informací: údaje o citování, úroveň časopisu (to jak vyhovuje vydavatelským normám) a konečně zhodnocení časopisu experty.

Výběr nových časopisů je přísný. ISI vychází z předpokladu, že většina zásadních prací vychází v omezeném okruhu časopisů. A má pro to i důkazy. V roce 1988 bylo např. zpracováno kolem 8 miliónů citací. Z nich 83 % byly citace článků uveřejněných pouze v 900 časopisech z celkového počtu 4400 časopisů sledovaných citační službou. Z 435 000 originálních vědeckých prací či literárních studií bylo 86 % publikováno ve 2000 časopisech. V zásadě by se tedy mohl ISI omezit na zhruba 500 špičkových časopisů, a přesto by poskytoval služby na velmi dobré úrovni. Jestliže dnes ISI zpracovává více než 7000 časopisů, daleko to přesahuje potřeby běžného odběratele, a proto se zařazení dalších titulů pečlivě zvažuje.

Pokud jde o posouzení citovanosti publikovaných článků, opírá se o databázi SCI, která spolu s databázemi Social Sciences Index a Arts and Humanities Citation Index zahrnuje asi 18 miliónů zdrojových položek publikovaných od roku 1945 a více než 217 miliónů citací.

Pro hodnocení citovanosti článků publikovaných v určitém časopise slouží Journal Citation Reports, které hodnotí celkový počet citací, ohlas na články, citovanost určitých časopisů atd. Celkový počet citací článků publikovaných v renomovaném časopise může být úctyhodný: v roce 1988 se na prvním místě umístil Journal of biological Chemistry se 173 tisíci citacemi, těsně následovaly Nature (167 987), Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA (167 464), Journal of the American Chemical Society (122 492), Science (106 393) atd. Dvacátý pátý nejcitovanější časopis dosáhl 34 856 citací. Všechny nejcitovanější časopisy jsou věnovány základním vědám včetně medicíny, nebo jsou to časopisy typu Nature a Science. Časopisy věnované specifickým odvětvím (např. zemědělské) se mezi nejcitovanějšími pochoptitelně neobjevují.

Závažnost (impact) časopisu, resp. publikovaných článků se hodnotí indexem, který se vypočítá dělením počtu citací časopisu v určitém roce počtem prací v něm uveřejněných v předcházejících dvou letech. V roce 1988 byl na prvním místě Annual Review of Biochemistry, který dosáhl 3237 citací 67 článků publikovaných v letech 1986 a 1987 (index 48,3). Následoval Pharmacological Review (index 29,4), Annual Review of Immunology (25,4) atd. Na první místa se při tomto hodnocení dostávají časopisy typu sborníků, publikující literární studie, což znevýhodňuje časopisy publikující původní vědecké práce. Proto se vyřazují časopisy, které ve dvou letech publikovaly méně než 100 článků (což je případ sborníkových časopisů). Na první místo se tak v roce 1988 dostal časopis Cell (index 23,9), následován New England Journal of Medicine (21,1), Science (16,5), Nature (15,8), atd.

V poslední době hodnotí ISI i pětiletý ohlas, aby se zachytily práce, na něž není okamžitá reakce. Počet článků publikovaných v určitém roce (např. 1984) pak slouží při výpočtu indexu jako dělitel počtu citací za tento a následující čtyři roky (např. 1984-1988). V roce 1988 byl na prvním místě časopis Cell (index 77,4), následován Journal of experimental Medicine (44,2), atd. Mezi 25 časopisy se špičkovým pětiletým ohlasem se však většinou objevují ty, které zaujímaly přední místo i při hodnocení ohlasu v průběhu jednoho roku. Opět jsou to především časopisy biologické, včetně lékařských.

Pro zajímavost můžeme uvést, že databáze ISI umožňuje sledovat ohlas i podle různých typů "zdrojových položek" - původních prací, literárních studií, dopisů, poznámek, chyb i odvolávek. Tak např. literární studie měly největší ohlas u časopisu Lancet, původní práce v British Medical Journal atd. Do značné míry je to pochopitelné dáno charakterem časopisu.

Dále je možné pro jednotlivé časopisy pořádat výtah jejich nejcitovanějších článků, a to podle ohlasu v jednotlivých letech. Při hodnocení časopisu se rovněž posuzuje jeho internacionálnost, a to ve dvou směrech: podle státní příslušnosti prvního autora a podle státní příslušnosti autorů, kteří ho citovali. Státní příslušnost se posuzuje podle adresy pracoviště - dochází tu sice k určitým chybám (hostující vědci), ale ty nepřesahují 5 %. Některé časopisy jsou skutečně mezinárodní: třeba v International Journal of Cancer publikovali v roce 1984 autoři ze 32 zemí. Pokud se ukáže, že časopis je zajímavý jen pro omezenou geografickou oblast, je pravděpodobnost zařazení do služeb ISI menší.

Druhým kritériem pro posuzování časopisu je jeho vydavatelská úroveň. Především se hodnotí včasnost vydávání. Ta se považuje za jednu z hlavních povinností vydavatele. Je neetické a nepřijatelné, aby byl časopis vydáván se zpožděním nebo nepravidelně. Samozřejmě by také nemělo být nepřijatelně dlouhé období mezi dodáním rukopisu a vydáním.

Rozhodnutí ISI o zařazení časopisu do jeho služeb může být též ovlivněno tím, jak časopis dodržuje mezinárodní vydavatelská pravidla. Mj. jde např. o dostatečně informativní titul časopisu, dostatečně popisné tituly článků a abstraktů, úplné bibliografické informace u veškeré citované literatury, plné adresy včetně čísel telefonů a faxů u všech autorů atd.

Pochopitelně se bere v úvahu i jazyk, ve kterém je časopis vydáván. I když do CC jsou zařazovány časopisy vycházející v různých jazycích, je nezbytný dostatečně informativní abstrakt nebo souhrn v angličtině. Přeložen by měl být i název článku. Důležité jsou též další ukazatele: zda je odborně posuzována relevance rukopisu, spolehlivost metodiky, originalita výsledků, úplnost literatury a další faktory.

Zpětně se posuzuje vědecká kvalita přispívajících autorů i členů redakční rady: jak často publikovali, ve kterých časopisech se objevují jejich práce, zda jejich práce byly citovány. Kontrolují se i seznamy literatury, aby se zjistilo, zda autoři citují široký rozsah významných časopisů. To naznačuje, do jaké míry se autor seznámil s literaturou a je členem širší vědecké komunity.

Určitou pomocí při hodnocení může být také reputace určitého vydavatele, pokud jde o nové časopisy. Někteří vydavatelé totiž zakládají časopisy předčasně, nebo podléhají nátlaku určitých skupin apod.

Posledním kritériem jsou výsledky posouzení experty. Různé služby ISI mají k tomu účelu zařízeny poradní vydavatelské rady, jejichž členy jsou významní vědci a jejichž kolektivní multidisciplinární odborné znalosti jsou cenným přínosem při posuzování nových i již existujících publikací. Kromě toho se vyžadují posudky od vědců z oblastí výzkumu, které posuzovaný časopis pokrývá.

Je zřejmé, že výběr časopisu je náročný proces, prováděný řadou specialistů a zahrnující řadu kritérií. Cílem je, aby byly sledovány skutečně jen kvalitní časopisy. V závěru proto autor doporučuje všem vydavatelům žádajícím o zařazení periodika do služeb ISI, především CC, aby své žádosti řádně zvážili a pokud ji přesto zašlou, aby ji doložili všemi náležitostmi (plné údaje o vydavateli, resp. editorovi, o jazyku, frekvenci vydávání atd.) a rovněž několika posledními výtisky periodika.

Ing. Jan Jirátko, CSc.

CONTENT

S m r ě k a L., B a b ů r e k I.: The transmission of a mixture infection caused by arabic mosaic virus, tomato black ring virus and cucumber mosaic virus from leavels of spontaneously infected raspberry (<i>Rubus idaeus</i> L.) plants to assay plants	81
S l o v á k M.: Suitability of <i>Exetastes cinctipes</i> Retzius and <i>Microplitis mediator</i> Haliday for mass rearing against cabbage moth	91
J u r í k M., Z á h o r o v á K.: Separation and transmission of two legumes viruses from mixed infection by aphids	95
P o l á k J., J e v t u š e n k o O. A.: The detection of beet western yellows virus using antibodies conjugated with inorganic pyrophosphatase in ELISA	101
V o ž e n í l k o v á B.: The fungicides inhibiting on <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib) de Bary and <i>Trichoderma</i> T7 <i>in vitro</i>	109
Š u b í k o v á V., B o j ň a n s k ý V., B a u m g a r t n e r o v á H.: Occurrences of beet necrotic yellow vein virus in Slovakia	115
M o l n á r J.: Oriental peach moth (<i>Cydia molesta</i> Busck) - flight activity, temperature - phenological model of development	123
L i š k a M.: The possibilities of winter wheat protection against dwarf smut of wheat	135

ACTUALITIES

D í r l b e k o v á O., J e d l i ě k a M., D í r l b e k J.: A method of monitoring the biological effectiveness of the control of the Colorado potato beetle due to experimental treatment with the mycoinsecticide boverol	149
S t a r k b a u e r o v á Z., Š r o b á r o v á A.: Molecular aspects of the <i>Agrobacterium tumefaciens</i> pathogenity	154

Vědecký časopis OCHRANA ROSTLIN • Vydává Akademie zemědělských věd ČSFR -
Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází čtyřikrát ročně • Redaktorka
RNDr. Marcela Braunová • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 25 75 41 • Sazba
ÚVTIZ Praha, tisk ÚVTIZ Praha, pobočka Nitra, pracoviště Bratislava • © Ústav vědecko-
technických informací pro zemědělství, Praha 1992.

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS,
doručovatel tisku a Administrace centralizovaného tisku, Kafkova 19, 160 00 Praha 6