

VEDECKÝ  
ASOPIS



# OCHRANA ROSTLIN



0 XVIII-24

4

ČASOPIS 28 (LXV)  
ROK 1992  
ISSN 0036-5394

AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD ČSFR  
ÚSTAV VĚDEKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ  
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

This journal is covered by Agriindex of FAO (AGRIS database), by Bibliographie der Pflanzenschutzliteratur published by Zentralstelle für Agrardokumentation und -information (Phytomed database), by Biological Abstracts of Biosis (BIOSIS Previews database), and by Review of Agricultural Entomology and Review of Plant Pathology of CAB International Information Services (CAB ABSTRACTS database)

### **Redakční rada - Editorial Board**

Doc. ing. Václav Kůdela, DrSc. (předseda - Chairman)  
Ing. Jozef Huszár, DrSc. ( místopředseda - Vice-chairman)

### **Členové redakční rady - Members of the Editorial Board (CSFR)**

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. Cyprían Paulech, CSc., ing. Jaroslav Polák, DrSc., ing. Vlastimil Rasocha, CSc., ing. Tibor Roháčík, CSc., ing. Vladimír Řehák, CSc., doc. RNDr. Josef Šedivý, DrSc., ing. Prokop Šmirous, CSc., prof. ing. Vladimír Táborský, CSc., ing. Marie Váňová, CSc.

### **Zahraníční členové - Foreign Members of the Editorial Board**

Dr. I. R. Crute PhD (U. K.), Dr. R. S. S. Fraser PhD DSc FIHort (U. K.), Prof. Dr. K. Hurlé (Germany), Prof. A. Novacky, PhD (USA), Dr. F. Virányi PhD (Hungary), Prof. Dr. J. C. Zadoks ( The Netherlands)

### **Vedoucí redaktorka - Editor-in-Chief**

RNDr. Marcela Braunová

Contact address: Slezská 7, CS-120 56 Praha 2, Czechoslovakia, tel. 02/251098

Exchange of the journal for agricultural and forestry publications from all countries and nations is appreciated. This exchange is mediated by the Central Agricultural Library of the ÚVTIZ

Ochr. Rostl., 28, 1992 (3) : 240-320

## EFFECT OF PLANT EXTRACTS ON THE GROWTH OF PLANT PATHOGENIC FUNGI *IN VITRO*

Jan JIRÁTKO, Galina VESELÁ

Research Institute for Plant Production, CS-161 06 Praha 6-Ruzyně, Czechoslovakia

Water and acetone-water extracts from 20 plant species were tested for their effects on the mycelial growth of *Botrytis cinerea* Pers., *Fusarium solani* App. et Wr., *Rhizoctonia solani* Kuehn, and *Septoria nodorum* Berk. Tomato tops and parsley seed extracts exhibited the highest antifungal activity. They inhibited the growth of *R. solani* completely or almost completely and were highly inhibitory to the other test fungi. Extracts from dill, parsnip and lentil seeds, tetterwort and marigold tops, and hop cones were effective against one to three pathogens. In general, *R. solani* was the most and *F. solani* the least sensitive.

*Botrytis cinerea* Pers.; *Fusarium solani* App. et Wr.; *Rhizoctonia solani* Kuehn; *Septoria nodorum* Berk.; antifungal activity; plant extracts; botanical fungicides

In view of the well-known negative aspects of synthetic pesticides, more attention have been recently paid to the pesticides of plant origin including fungicides.

Several studies on the antimicrobial activity of different plant extracts have been published (Davidyuk, Beskaravainaya, 1987; Egger, 1987; Grewal, Grewal, 1988; Herger, Klingauf, 1990 etc.). In these experiments, active compounds have not been isolated and often it is supposed that the mixture of various compounds could have a higher activity than the most active ingredient itself.

Other authors aimed at testing active principles. Many antifungal compounds have been isolated from higher plants, e.g. terpenes and terpenoids, especially saponins (Betz, Schlosser, 1984; Bosshard et al., 1987; Deacon, Mitchell, 1985; Gennari et al., 1987; Levy et al., 1989; Marston, 1988), flavonoids and related compounds (Biswas et al., 1981; Pan et al., 1985; Singh et al., 1988; Weidenborner et al., 1990), polyacetylenes (Bourque et al., 1985) etc.

Most of the extracts and compounds tested were obtained from subtropical and tropical plants. But native plants of the temperate zone also possess antifungal activities. These plants could be cultivated on large scale as a renewable source of biodegradable, environment-friendly pesticides.

The aim of our work was to assess antifungal activity of several water and acetone-water extracts from cultivated and wild plants grown or growing in Czechoslovakia.

### MATERIALS and METHODS

**Plant material** - The following plants and their parts were used either fresh or air-dried:

<i>Achillea millefolium</i> L. (yarrow milfoil)	fresh tops
<i>Anethum graveolens</i> L. 'Hanák' (dill)	dry seeds
<i>Armoracia rusticana</i> G. M. Sch. 'Krenox' (horse radish)	fresh leaves
<i>Artemisia vulgaris</i> L. (mugwort)	fresh tops
<i>Chelidonium majus</i> L. (tetterwort)	fresh tops
<i>Equisetum arvense</i> L. (common horsetail)	dry tops
<i>Glycine soja</i> Sieb. Zucc. 'Aida' (soybean)	dry seeds
<i>Humulus lupulus</i> L. 'Osvaldův klon č. 72' (hop)	dry cones
<i>Lens esculenta</i> L. 'Lenka' (lentil)	dry seeds
<i>Lupinus polyphyllus</i> Lindl. (lupin)	dry seeds
<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. 'Harzfeuer' (tomato)	fresh tops or dry tops
<i>Medicago sativa</i> L. 'Pálava' (lucerne)	fresh roots
<i>Mentha x piperita</i> 'Multimentha' (peppermint)	dry tops
<i>Pastinaca sativa</i> L. 'Dlouhý bílý' (parsnip)	dry seeds
<i>Petroselinum hortense</i> var. <i>crispum</i> Mill. 'Kadeřavá' (parsley)	dry seeds
<i>Rumex obtusifolius</i> L. (broad-leaved dock)	fresh roots
<i>Salvia officinalis</i> L. 'Krajová' (garden sage)	dry tops
<i>Tagetes patula</i> L. 'Oranžový paprsek' (marigold)	fresh tops
<i>Tanacetum vulgare</i> L. (common tansy)	fresh tops
<i>Urtica dioica</i> L. (perennial nettle)	fresh tops

In the beginning, fresh plant material was tested. But owing to the inconvenient extraction procedure, dried material was used later on. Addition of acetone during the extraction of dry material could also improve extraction effectiveness.

**Pathogens** - Strains of *Fusarium solani* App. et Wr. and *Rhizoctonia solani* Kuehn were isolated from soil, strains of *Septoria nodorum* Berk. from wheat

at Ruzyně. *Botrytis cinerea* Pers. strain was isolated from grape vine at the Viticulture Research Station Karlštejn.

**Extractions** - Fresh material was extracted following Grewal and Grewal (1988). Macerated leaves (200 g) were boiled in 1 liter of water for 30 minutes to destroy plant enzymes. After sieving through a cheese-cloth, the extract was filtered through a Filtrak filter paper No. 290.

A slightly modified method outlined by Herger and Klingauf (1990) was used to extract air-dried materials. For a 2% extract, 10 g of powdered material were mixed with 100 ml of acetone and diluted with water up to 500 ml 5 minutes later. After 1 hour, the extract was filtered. Extracts were used within 24 hours after preparation.

**Agar plates** - To obtain a 1% medium (or 10% in the case of fresh material), extracts prepared as above were mixed with an equal volume of double strength Czapek-Dox agar medium. The medium was then sterilized at 0.1 MPa for 20 min and poured into petri dishes (9 cm diameter).

**Inhibition of mycelial growth** - Plates were inoculated with discs (5 mm diameter) of the test fungi, cut out from actively growing cultures on agar plates. Plates were incubated at room temperature (25, later on 20 °C), and the colony diameter was recorded daily. Percent inhibition over control in radial growth three and seven days after inoculation (DAI) was calculated. In general, the experiments were run in four replicates.

## RESULTS and DISCUSSION

Most extracts showed only negligible or even zero antifungal effects. Nevertheless, several extracts inhibited fungal growth. This is documented by selected experimental results presented in Tables I and II. Only those treatments are shown, where the efficacy was higher than 40 %.

Of course, antifungal activities were differential. Best results were obtained in tomato and parsley. It can be seen that extracts from fresh and dry tomato tops completely or almost completely inhibited growth of *R. solani* and this effect persisted seven days at least. These extracts showed also a very remarkable effect on *S. nodorum*, while the activities against *F. solani* and *B. cinerea* were moderate. Our results are in conformity with the earlier reports (Betz, Schlosser, 1984), where similar inhibition was recorded in different plant pathogens (54 to 100 %). But extracted tomatine was used in these experiments. Singh and Pathak (1984) reported on the inhibiting effect of tomato extracts on spore germination of *Ustilago* spp.

I. Effect of plant extracts on the mycelial growth of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium solani*

Plants	Days after inoculation					
	3			7		
	Colony diameter*		Percent inhibition	Colony diameter*		Percent inhibition
	Extract	Control		Extract	Control	
<i>Rhizoctonia solani</i>						
<i>A. graveolens</i> - seeds	5.0 ± 0.00 **	14.2 ± 0.65	100.0	33.0 ± 1.84 **	58.4 ± 1.18	47.6
<i>H. lupulus</i> - dry cones	17.5 ± 1.89 **	35.3 ± 3.52	58.7	58.8 ± 6.83 **	88.0 ± 3.25	36.2
<i>L. esculenta</i> - seeds	5.0 ± 0.00 **	14.5 ± 0.90	100.0	40.3 ± 2.01 **	66.8 ± 1.71	42.9
<i>L. esculentum</i> - fresh tops	5.0 ± 0.00 **	33.0 ± 3.40	100.0	5.0 ± 0.00 **	58.8 ± 0.59	100.0
- dry tops	6.5 ± 0.25 **	21.5 ± 0.83	90.9	10.8 ± 1.85 **	89.0 ± 2.20	93.2
<i>P. sativa</i> - seeds	5.0 ± 0.00 **	14.0 ± 0.61	100.0	5.0 ± 0.00 **	56.3 ± 1.08	100.0
<i>P. hortense</i> - seeds	5.0 ± 0.00 **	14.5 ± 0.90	100.0	5.0 ± 0.00 **	3.3 ± 1.85	100.0
<i>T. patula</i> - fresh tops	5.0 ± 0.00 **	24.8 ± 2.03	100.0	7.7 ± 0.95 **	40.0 ± 2.36	92.3
<i>Fusarium solani</i>						
<i>L. esculentum</i> - fresh tops	28.5 ± 6.42 **	46.6 ± 5.46	43.5	48.2 ± 4.36 **	70.2 ± 3.43	33.7
- dry tops	14.3 ± 1.44 **	24.8 ± 1.19	53.0	39.0 ± 0.35 **	88.5 ± 0.35	59.5
<i>P. hortense</i> - seeds	10.8 ± 0.96 **	17.8 ± 1.67	54.7	35.0 ± 1.12 **	45.8 ± 1.24	26.5
<i>T. patula</i> - fresh tops	15.3 ± 5.48 **	31.8 ± 9.98	61.6	34.5 ± 9.42 *	68.5 ± 3.49	53.5

Hold for Table I and II

\*mm ± S.E.

Figures followed by one or two asterisks are significantly different from the control when tested by means of Student's *t*-test ( $P = 0.05$  or  $P = 0.01$  resp.)

II. Effect of plant extracts on the mycelial growth of and *Septoria nodorum* and *Botrytis cinerea*

Plants	Days after inoculation					
	3			7		
	Colony diameter		Percent inhibition	Colony diameter		Percent inhibition
	Extract	Control		Extract	Control	
<i>Septoria nodorum</i>						
<i>L. esculentum</i> - fresh tops	8.0 ± 1.41 **	32.5 ± 2.83	89.1	13.5 ± 0.00 **	56.3 ± 0.59	83.4
- dry tops	5.3 ± 0.22 **	11.8 ± 1.02	95.6	13.0 ± 0.61 **	47.0 ± 1.06	81.0
<i>P. hortense</i> - seeds	5.0 ± 0.00 **	10.8 ± 1.50	100.0	12.0 ± 1.06 **	35.3 ± 1.08	76.9
<i>T. patula</i> - fresh tops	12.5 ± 5.10	25.8 ± 2.50	63.9	21.0 ± 9.41	44.5 ± 2.72	59.5
<i>Botrytis cinerea</i>						
<i>C. majus</i> - fresh tops	10.2 ± 1.08 **	28.3 ± 2.33	77.7	11.2 ± 0.22 **	70.0 ± 0.20	90.5
<i>L. esculentum</i> - dry tops	16.8 ± 1.84 **	36.5 ± 2.66	62.5	-	-	-
<i>P. sativa</i> - seeds	5.3 ± 0.22 **	18.3 ± 0.75	62.5	13.0 ± 0.94 **	87.0 ± 1.26	90.2
<i>P. hortense</i> - seeds	5.8 ± 0.65 **	16.0 ± 0.61	92.7	-	-	-

Extracts from parsley seeds showed 100% inhibition in mycelial growth of *R. solani* and *S. nodorum*, though in *S. nodorum* there was a partial loss of activity at 7 DAI. *B. cinerea* showed also remarkable reduction in mycelial growth (more than 90 %), while only low effect on *F. solani* was detected. Parsnip seed extract showed a pronounced efficacy against *R. solani* and *B. cinerea* only. Essential oils of *Umbelliferae* are known to possess antimycotic activities (S h u k l a , T r i p a t h i , 1987 and others), but we have not found any report on the effect of parsley and parsnip seed extracts against plant pathogenic fungi. Extract from dill seeds showed a striking, but only short-lasting activity against *R. solani*. Similarly, antifungal effects of dillseed oil against *Penicillium* spp. and *Alternaria tenuis* were observed by A r o r a and P a n d e y (1984).

In the experiments of G r e w a l and G r e w a l (1988), marigold extract showed only low effect on the mycelial growth of 18 fungi including *F. solani* (up to 28.9 %), but it was rather effective in our tests, especially against *R. solani*. Its effect on *F. solani* was moderate (61.6 and 53.5 %, 3 and 7 DAI respectively), but higher than reported by the above-mentioned authors (7.8 %), although insignificant at 3 DAI.

Lupin is known to contain antifungal substances in roots, seeds and even seedlings (D o r o z h k i n et al., 1985; I s h a k et al., 1983; L a n e et al., 1987). But lupin seed extract was actually ineffective in our experiments. Regarding other legumes, soybean and lentil seed extracts exhibited high activities against *Alternaria alternata* and *Aspergillus niger* (P a n d e y et al., 1981). We have observed a strong effect of lentil seed extract on the mycelial growth of *R. solani* at 3 DAI (100% inhibition), but four days later merely 42.9% inhibition was found. After all, a conspicuous decrease of extract activity was noted in some other experiments, too.

Tetterwort possesses antimicrobial, above all antiviral activity (P ř í h o d a , 1973). In these experiments, extract from tetterwort tops inhibited mycelial growth of *B. cinerea* only, but its activity was rather high and persistent in this case. Hop extract showed a moderate effect on *R. solani* and a negligible activity against other fungi tested.

As to the other plant extracts, no or low inhibitory activity was observed. In some cases, mycelial growth was even stimulated.

In general, *R. solani* was the most and *F. solani* the least sensitive among the test fungi. *S. nodorum* showed also a remarkable sensitivity.

Low or missing activity of many extracts does not necessarily mean that the plants do not contain any antifungal substances. Extraction procedures used in these experiments destroyed probably a great deal of volatiles and only thermostable compounds could survive. This was observed by many others

(Davidyuk, Beskaravainaya, 1987; Agarwal et al., 1983 etc.). Nevertheless, fungitoxicities of many plant extracts (lemon, Piper betle) were not affected by autoclaving (Agarwal et al., 1983; Dubey, Tripathi, 1987), which also holds true of saponins.

Several active ingredients (e.g. parthenolide in common tansy) show low solubility in water, but they are fairly soluble in different organic solvents (Gennari et al., 1987). Such compounds could be scarcely extracted from fresh plant material, if water was the only extractant. So it will be necessary to test again some plant materials using different extraction methods.

In conclusion, our preliminary results show there exists a distinct antifungal activity in a range of plant extracts. Tomato tops and parsley seeds seem to be especially promising in this respect, and they could be used as a source of antimycotic substances.

### Acknowledgements

We thank Mrs Miroslava Kutíková for technical assistance.

### References

- AGARWAL, M. B. - GUPTA, J. S. - DIXIT, R. B. - AGARWAL, M.: Effect of distillation and autoclaving on phytoncidal principles of extracts of some plants in relation to *Colletotrichum graminicolum* and *C. capsici*. J. Indian Bot. Soc., 62, 1983(4): 423-425.
- ARORA, R. - PANDEY, G. N.: Effect of essential oils on citrus decay pathogens. Biol. Memoirs, 9, 1984(1): 69-72.
- BETZ, H. - SCHLÖSSER, E.: On the use of fungicidal saponins in crop protection. In: Tag.-Ber. der AdL der DDR, 222, 1984: 179-187.
- BISWAS, P. - BHATTACHARYYA, A. - BOSE, R. C. - MUKHERJEE, N. - ADITYACHAUDHURY, N.: Further studies on the sensitivity of plant pathogenic organisms towards some naturally occurring chalcones and flavones. Experientia, 37, 1981: 387-398.
- BOSSHARD, E. - SCHÜEPP, H. - SIEGFRIED, W.: Concepts and methods in biological control of diseases in apple orchards. Bull. OEPP, 17, 1987 (4): 655-663.
- BOURQUE, G. - ARNASON, J. T. - MADHOSINGH, C. - ORR, W.: The photosensitization of the plant pathogen *Fusarium culmorum* by phenylheptatriene from *Bidens pilosa*. Can. J. Bot., 63, 1984(5): 899-902.
- DAVIDYUK, L. P. - BESKARAVAINAYA, M. A.: Izuchenie protiplesnevoi aktivnosti klematisov iz kollekcii sada. In: Byull. Gosud. Nikit. Bot. Sada, 64, 1987: 88-93.
- DEACON, J. W. - MITCHELL, R. T.: Toxicity of oat roots, oat root extracts, and saponins to zoospores of *Pythium* spp. and other fungi. Trans. Br. mycol. Soc., 84, 1985(3): 479-487.
- DOROZHKIN, N. A. - DOMASH, V. I. - NITIEVSKAYA, V. I. - MIRONENKO, A. V. - CHEKHOVA, A. N.: Effect of proteinase inhibitors from lupin seeds on *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) Snyd. et Hans. Dokl. AN BSSR, 29, 1985(6): 551-553.

- DUBEY, P. - TRIPATHI, S. C.: Studies on antifungal, physico-chemical and phytotoxic properties of the essential oil of Piper beetle. Z. Pfl.-Krankh. Pfl.-Schutz, 94, 1987(3) : 235-241.
- EGGLER, B. D.: Fungizide Wirkung verschiedener Pflanzenextrakte. Ergebnisse aus Laborscreening, Klimakammer- und Freilandversuche. Med. Fac. LandbWet., Rijksuniv. Gent, 52, 1987(3a) : 971-980.
- GENNARI, M. - GENTLE, I. A. - CUGUDDA, L.: Activity of a sesquiterpene  $\gamma$ -lactone against phytopathogenic fungi. Z. Pfl.-Krankh. Pfl.-Schutz, 94, 1987 (1) : 68-73.
- GREWAL, P. S. - GREWAL, S. K.: Selective fungicidal properties of some plant extracts to mushroom weed moulds. Phytopath. mediterr., 27, 1988(2) : 112-114.
- HERGER, G. - KLINGAUF, F.: Control of powdery mildew fungi with extracts of the giant knotweed, *Reynoutria sachalinensis* (Polygonaceae). Med. Fac. LandbWet., Rijksuniv. Gent, 55, 1990(3a) : 1007-1014.
- ISHAK, M. - SAYED, F. A. - TOLBA, M. K.: Antifungal substances from some cultivated plants in Egypt III. Nature of the antifungal substances exuded from segments of lupin seedlings against *Rhizoctonia solani*. In: Bull. Fac. Sci., Cairo Univ., 50 1983 : 49-61.
- LANE, G. A. - SUTHERLAND, O. R. - SKIPP, R. A.: Isoflavonoids as insect feeding deterrents and antifungal compounds from root of *Lupinus angustifolius*. J. Chem. Ecol., 13, 1987(4) : 771-783.
- LEVY, M. - ZEHAVI, U. - NAIM, M. - POLACHEK, I. - EVRON, R.: Structure-biological activity relationships in alfalfa antimycotic saponins: the relative activity of medicagenic acid and synthetic derivatives thereof against plant pathogenic fungi. J. Phytopath., 125, 1989 (3) : 209-216.
- MARSTON, A. - GAFNER, F. - DOSSAJI, S. F. - HOSTETTMANN, K.: Fungicidal and molluscicidal saponins from *Dolichos kilimandscharicus*. Phytochemistry, 27, 1988(5) : 1325-1326.
- PAN, S. - MUKHERJEE, B. - GANGULY, A. - MITRA, S. R. - BHATTACHARYA, A. A.: Antifungal activity of some naturally occurring flavonoids. Z. Pfl.-Krankh. Pfl.-Schutz, 92, 1985 : 392-395.
- PANDEY, D. K. - TRIPATHI, R. N. - TRIPATHI, N. N. - TRIPATHI, R. D.: Antifungal activity of some seed extracts. Environment India, 4, 1981(1/2) : 83-85.
- PŘÍHODA, A.: Medicinal plants. (In Czech) Praha, SZN 1973 : 291 p.
- SHUKLA, H. S. - TRIPATHI, S. C.: Antifungal substance in the essential oil of anise (*Pimpinella anisum* L.). Agric. biol. Chem., 51, 1987(7) : 1991-1993.
- SINGH, K. V. - PATHAK, R. K.: Effect of leaves extracts of some higher plants on spore germination of *Ustilago maydis* and *U. nuda*. Fitoterapia, 55, 1984(5) : 318-320.
- SINGH, U. P. et al.: Antifungal activity of some new flavones and flavone glycosides of *Echinops echinatus*. Can. J. Bot., 66, 1988(9) : 1901-1903.
- WEIDENBÖRNER, M. - HINDORF, H. - JHA, H. C. - TSOTSONOS, P. - EGGE, H.: Antifungal activity of isoflavonoids in different reduced stages on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*. Phytochemistry, 29, 1990(3) : 801-803.

Received for publication April 14, 1992

J. Jirátko, G. Veselá (Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha-Ruzyně)

### Vliv rostlinných extraktů na růst fytopatogenních hub *in vitro*

Testovali jsme působení vodních a acetono-vodních extraktů ze 20 druhů rostlin na růst mycelia *Botrytis cinerea* Pers., *Fusarium solani* App. et Wr., *Rhizoctonia solani* Kuehn a *Septoria nodorum* Berk. po třech a sedmi dnech kultivace na Czapek-Doxově agaru.

Většina extraktů měla jen nepatrné inhibiční působení, některé dokonce růst hub stimulovaly. V tab. I až II jsou zachyceny případy, kdy bylo inhibiční působení výrazné (nad 40%).

Extrakt z natě rajčete zcela nebo téměř zcela zastavil růst *R. solani*, výrazně působil na *S. nodorum*, středně na *F. solani* a *B. cinerea*. Extrakt ze semen petržele zahradní stoprocentně inhiboval růst *R. solani* a *S. nodorum*, i když u *S. nodorum* účinek po sedmi dnech výrazně poklesl. Růst mycelia *B. cinerea* byl redukován více než 90%.

Extrakt ze semen pastináku setého výrazně působil na *R. solani* a *B. cinerea*, extrakt ze semen kopru vonného účinně, ale jen krátkodobě brzdil růst *R. solani*. Účinný byl též extrakt z natě aksamitníku rozkladitého, především vůči *R. solani*. Dále bylo zaznamenáno určité působení extraktu ze semen čočky jedlé na *R. solani* a výrazný účinek extraktu z natě vlaštovičnicku většího, ale jen na *B. cinerea*.

Z testovaných patogenů byla nejcitlivější *R. solani*, nejméně citlivé *F. solani*.

*Botrytis cinerea* Pers.; *Eusarium solani* App. et Wr.; *Rhizoctonia solani* Kuehn; *Septoria nodorum* Berk.; antifungální působení; rostlinné extrakty; botanické fungicidy

**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**



## ESTIMATION OF LARVAL ECLOSION OF THE WINTER MOTH, *OPEROPHTERA BRUMATA* L.

František KOCOUREK, Jana BERÁNKOVÁ

Research Institute for Plant Production, 161 06 Praha 6

Temperature requirements for post-diapause development of *Operophtera brumata* eggs from Central Bohemia differed among local populations collected on different host plants. The sums of effective temperatures for the median of larval eclosion determined at constant temperatures of 12, 15, 18, and 21 °C fluctuated from 120 to 414 DD and developmental thresholds from 4.6 to 6.5 °C when the diapause was interrupted during January and February. The sums of effective temperatures recorded with one population differed in different years. The duration of the diapause phase was so long that no post-diapause quiescence phase occurred. Diapause development smoothly progressed to post-diapause development. The longer was the chilling period, the lower sums of effective temperatures were required for the termination of egg development. The sums of effective temperatures for the median of larval eclosion in field conditions in average equalled to  $55.3 \pm 8.4$  DD above the threshold of 5.6 °C, in dependence on the host plant and the year of observation. Sums of effective temperatures for post-diapause development of *O. brumata* eggs determined at constant temperatures cannot be employed to predict larval eclosion in field conditions.

diapause; egg development; phenology; sums of effective temperatures; integrated pest control

The winter moth, *Operophtera brumata* is a univoltine polyphagous insect, it occurs in the whole temperate zone of the northern hemisphere. Adults emerge in the late autumn or early winter, eggs overwinter, larvae develop during the spring. Then the pest survives the summer and early autumn in pupal stage.

In Czechoslovakia, the winter moth (WM) is known as a local but significant pest on fruit trees, in woods and forests (especially on oak). Recently, overpropagation of WM has also observed in urban ornamental gardens.

In the integrated pest management of orchards, control of WM population is based on the results of winter surveys of shoots (E r b e n o v á et al., 1987). However, the efficacy of both chemical and biological pesticides often is insufficient. Application timing is one of the causes of such low efficacy.

The optimal control treatments coincide with the peak of eclosion and vary in different years according to temperature patterns in the winter and early spring. The post-diapause development of WM eggs is dependent especially on

environmental temperature (Wylie, 1960). The method of effective temperature sums appeared to be useful for the prediction of larval eclosion. But temperature characteristics, the thermal constant for post-diapause egg development and the developmental threshold cannot be inferred from literature data. These parameters are subject to clinal variability, vary with different populations, and especially with the latitude and the elevation of each locality. Such variability is indicated by differences in the duration of egg development observed in experiments conducted under constant conditions with eggs of different winter moth populations from different latitudes (Kozhanchikov, 1950; Kimberling, Miller, 1988, and others).

The aim of this paper was to determine, using WM populations sampled on various host plants, temperature requirements (effective temperature sum, developmental threshold) for the post-diapause development of eggs and to verify their validity in predicting time of larval eclosion in the field.

#### MATERIAL and METHODS

Mated WM adults were collected on various host plants: in 1987, on sour cherry trees at Roudnice (November 12 to 18), on beech trees in Praha-Ruzyně (November 9 to 29), and on oak trees at Řeporyje (November 9 to 18); in 1988, on sour cherry trees at Roudnice and Žehušice (November 26 - December 3), on beech trees in Praha-Ruzyně (November 13 and 26), on apple and pear trees in Praha-Ruzyně (November 26), on oak trees (eggs) at Zbraslav (during November), and in 1989 on beech trees (December 16). Each sample representing 20 to 50 WM pairs was separately placed in isolators on the trees for eggs laying. The eggs overwintered in an orchard in Praha-Ruzyně.

The time necessary for larval eclosion ( $T_E$ ) was determined at constant temperatures: 12, 15, 18 and 21 °C. Eggs number in experimental variants ranged from 50 to 400. The time of egg development from the beginning of the experiment (transfer of the eggs into the thermostat) to larval eclosion was recorded. Hatching was controlled twice a day. Larvae numbers were expressed in cumulative egg-hatch percentages and transferred to probits. For each temperature, the dependence between the development rate ( $r_T = 1/T_E$ ) and the probits were determined. To obtain regression expression of the relationship between  $r_T$  and hatching course in probits, development rates for 5, 50, and 95 % egg hatches were calculated for each experimental variant (temperature) from this regression function. Development rates

( $r_T$ ) dependent on temperature were expressed by means of a regression equation

$$r_T = A_0 + A_1 \cdot T$$

in which  $T$  stands for corresponding constant temperature values. The developmental threshold ( $D_T$ ) was calculated using the following relationship:

$$D_T = \frac{A_0}{A_1}$$

Sums of effective temperatures for 5, 50, and 95 % larval eclosion were calculated from regression equations for each experimental variant according to host plants. In 1989, the course of larval eclosion in different populations was compared at 15 °C. The effect of varying duration of the chilling period on the course of larval eclosion was examined in 1989 at 12 °C with four populations. In the field conditions were the eggs sampled two times: on January 13, and on February 24.

I. Larval eclosion of the winter moth, *Operophtera brumata*, at constant temperatures (1988 - 1989)

Locality	Year	Date of diapause interruption	Host plant	Development threshold	SET [°C] for hatch percentages		
					5	50	95
Roudnice	1988	9.2.	sour cherry, apple	6.4	107.5	149.8	182.8
Ruzyně	1989	13.1.	apple, pear	4.6	302.3	414.2	526.1
		24.2.	apple, pear	4.6	133.9	188.5	231.1
Roudnice	1989	24.2.	sour cherry	6.1	133.0	177.1	211.5
Žehušice	1989	24.2.	sour cherry	6.1	91.2	120.5	143.3
Ruzyně	1988	15.1.	beech	5.3	165.5	193.7	211.0
		26.1.	beech	5.3	143.6	175.2	206.7
Řeporyje	1988	26.1.	oak	4.2	170.5	243.9	301.2
Ruzyně	1989	13.1.	beech *	6.1	138.9	204.5	270.0
		24.2.	beech *	6.1	106.5	151.0	185.7
		13.1.	beech **	4.5	237.0	311.7	386.4
		24.2.	beech **	4.5	153.6	199.1	234.5
Zbraslav	1989	24.2.	oak	5.5	124.0	169.1	215.0

\* oviposition on November 13

\*\* oviposition on November 26

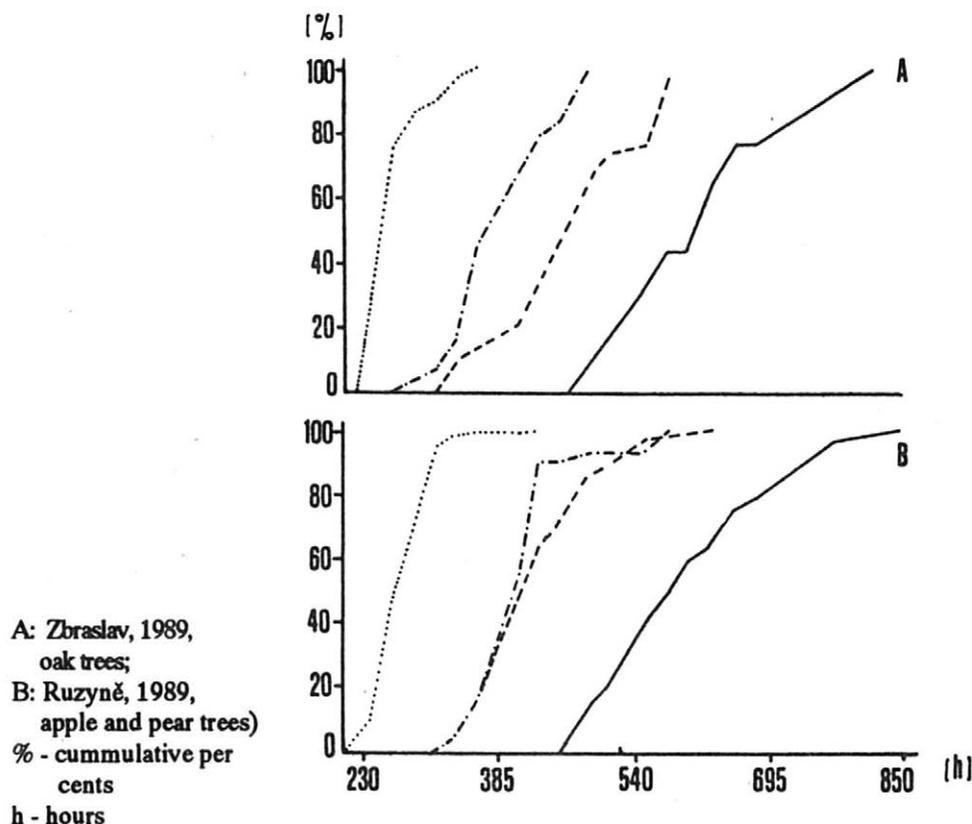
The course of WM larval eclosion in field conditions was monitored in an orchard in Praha-Ruzyně in 1989-1990. Egg-hatching course in the orchard was expressed in cumulative percentages in dependence on calendar dates, as well as in effective temperature sums. It was measured in a standard meteorological station approx. 2 km from the orchard. Effective temperatures were calculated from daily mean temperature  $(T_{min} + T_{max})/2$  above the developmental threshold of 5.6 °C. Effective temperature summation was started on January 1.

The sums of effective temperatures (SET) and temperature threshold of WM eggs development are in Tab. I for different populations. Temperature characteristics for the diapause development of eggs differed among populations, years and that they also were dependent on the length of chilling period. The data do not permit statistical analysis but our conclusions are based on trends discussed below (Tab. I, Fig. 2). Developmental thresholds fluctuated in a range from 4.6 to 6.5 °C, effective temperature sums fluctuated in case of the larval eclosion median from 120 to 414 DD. Differences in SET recorded among populations collected on different host plants were higher under constant conditions (Tab. I) than in the field (Tab. II).

#### II. Larval eclosion of the winter moth in orchard conditions (Ruzyně, 1988 - 1990)

Locality	Year	Host plant	Date of 5% hatch	SET <sub>5.6</sub> [°C]	Date of 50% hatch	SET <sub>5.6</sub> [°C]
Roudnice	1988	sour cherry	8.4.	49.4	12.4.	58.0
Ruzyně	1988	beech	11.4.	33.4	13.4.	36.9
Ruzyně, Řeporyje	1988	oak	18.4.	44.8	20.4.	59.5
Roudnice	1989	apple, pear	28.3.	47.3	-	-
Ruzyně	1989	beech	28.3.	32.6	4.4.	59.6
Žehušice	1989	sour cherry	29.3.	48.3	3.4.	53.6
Ruzyně	1989	apple, pear	29.3.	37.1	4.4.	59.6
Ruzyně, Zbraslav	1989	oak	30.3.	42.9	4.4.	59.6
Ruzyně	1990	beech	17.4.	151.5	24.4.	188.6

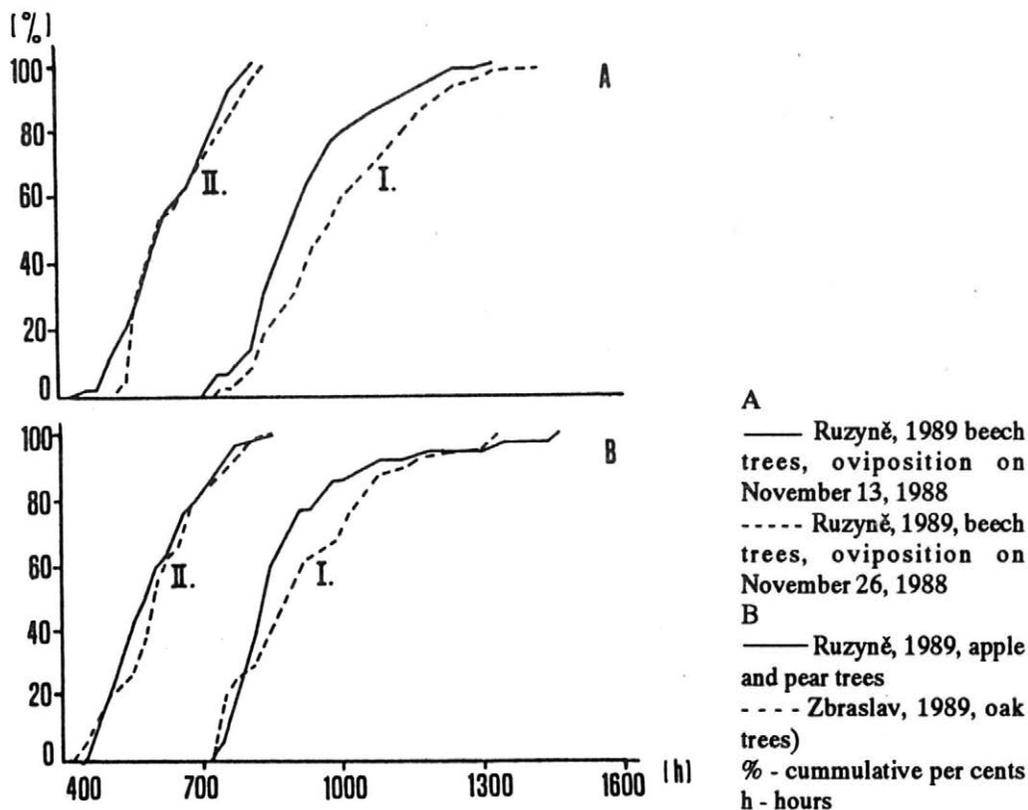
Larval eclosion curves characterizing the two most numerous winter moth populations, recorded at four constant temperatures, are presented in Fig. 1. The data were recorded with all examined populations, all of them showing consistent trends. Larval eclosion median time decreased with increasing ambient temperature. In case of the *O. brumata* population collected on apple trees, the time decreased from 25 days (at 12 °C) to 10.3 days (at 21 °C). Post-diapause egg development of WM is significant dependent on temperature.



1. Time course of winter moth larval eclosion at constant temperatures of 12 ———, 15 - - - - -, 18 - . - . - ., and 21 °C - - - - -.

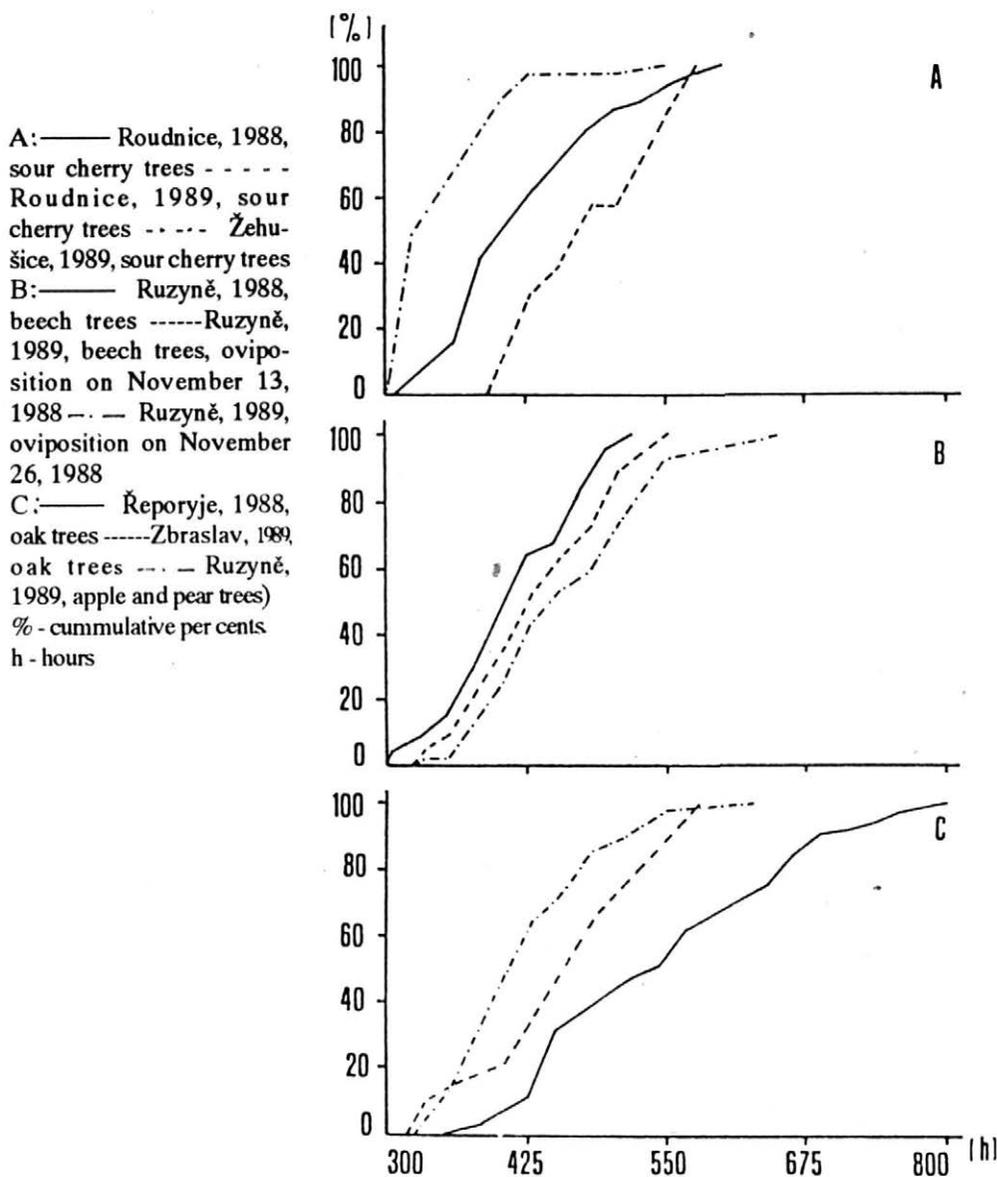
Curves characterizing larval eclosion at 12 °C and with varying duration of the chilling period are presented in Fig. 2. When the chilling period was discontinued by 42 days earlier (on January 13), the period until the medial of larval eclosion substantially increased with all populations. SET until the median of larval eclosion increased by 70 to 90 DD. SET recorded during the same period in the field was only 10 DD. This shows that chilling period of diapause was not completed by January 13.

Differences in the course of *O. brumata* larval eclosion among populations collected on different host plants and in different years, recorded at 15 °C are presented in Fig. 3. The period until the median of larval eclosion and the course of eclosion differed in local populations, both in case of populations collected



2. Time course of winter moth larval eclosion at 12 °C after different duration of the chilling period. I. - sampling on January 13, 1989, II. - sampling on February 24, 1989

on different host plants and in case of populations collected on the same host plant in different years. Larval eclosion in populations collected on sour cherry, apple, and beech trees occurred much earlier than that in populations collected on oak trees. Average time until the beginning of eclosion equalled in case of all populations, the eggs of which were reared at 15 °C for 13.5 days, until the median of eclosion for 17.9 days, and until the end of larval eclosion to 24.8 days. Average larval eclosion span of one population at 15 °C was 11.3 days. Differences from this average value were recorded in case of the population collected on sour cherry trees in 1989 at Žehušice with the median value being lower by 25 % and in case of the population collected on oak trees at Ruzyně in 1989, in dependence on the time of oviposition (Fig. 3). In case of eggs deposited 13 days after the onset of oviposition, a shift of the median by one



3. Time course of winter moth larval eclosion at 15 °C. A comparison of different populations

day occurred, and the period until the end of larval eclosion was extended by four days.

The sums of effective temperatures for the eclosion of the first larvae and for the median of larval eclosion fluctuated from 36.9 to 59.6 DD with a mean of  $55.3 \pm 8.4$  DD. The population collected at Ruzyně on beech trees in 1990 which reached the median of larval eclosion at a higher sum of effective temperatures is an exception. The causes might consist in late oviposition immediately followed by frosts, in a genetic shift associated with a sharp break in the pest gradation, and in abnormal weather conditions in winter months. Differences in the timing of larval eclosion among populations collected on different host plants were higher in 1988 than in 1989 (Tab. II) which also corresponded to data obtained in laboratory conditions. The order of larval eclosion in field conditions according to populations collected on different host plants was as follows: sour cherry, apple and pear, beech, and oak trees.

#### DISCUSSION

Considerable differences in temperature requirements for egg development in conditions of constant temperatures were recorded among local *O. brumata* populations collected on various host plants in Central Bohemia.

Differences in temperature requirements for *O. brumata* egg development among populations originating from different geographical regions were explained in terms of climatic and phenological differences among these localities (K o z h a n c h i k o v , 1950; K i m b e r l i n g , M i l l e r , 1988). In general terms, the egg phase is longer in higher northern latitudes and the pupa phase is shorter (K o z h a n c h i k o v , 1950).

We presumed that *O. brumata* eggs in mid January already had ended their development in the chilling period of diapause and reached the phase of post-diapause quiescence. This presumption was not confirmed by the results obtained. SET required for egg development were markedly dependent on the timing of the discontinuation of the chilling period. Prolongation of the chilling period in egg development in January or February resulted in a substantial effect on the reduction in SET necessary for further development. Therefore, we suppose that some egg development must have occurred during the chilling phase, that is at temperatures below the developmental threshold. The phase of post-diapause quiescence obviously does not occur in *O. brumata* populations from Central Bohemia. Diapause egg development in the chilling phase smoothly passes into post-diapause development. K i m b e r l i n g , M i l l e r (1988) also suppose that some developmental processes take place

in the course of the chilling period (at temperatures below the developmental threshold) in *O. brumata* population from Oregon.

It appears that diapause intensity estimated according to the duration of *O. brumata* development was very low in Central Bohemia. Similar findings led Wylie (1960) to a conclusion that *O. brumata* does not pass a true diapause in Central Europe. Briggs (1957) reported for *O. brumata* populations from Great Britain that their eggs developed continually during the winter from the time of oviposition. This finding was also confirmed by our results.

The temperature requirement for post-diapause development of *O. brumata* eggs is closely connected with the duration and intensity of the chilling period (Kimberling, Miller, 1988). SET value for the post-diapause development increase when the chilling period is artificially shortened. The increase in SET caused by a longer period preceding the onset of the chilling period owing to earlier oviposition is less marked. Differences in diapause development owing to the influence of varying intensity of the chilling period and differences in the timing of oviposition presumably are the main causes of SET variability recorded at constant egg rearing temperatures among years in case of the same populations. Oviposition timing is dependent on the timing of imago emergence which differs in different years. They are determined by the duration of the pupal phase which can be lengthened for example by reduced forage availability for larvae (Kozhanchikov, 1950), or by the action of high temperatures during larval development.

The sums of effective temperatures necessary for post-diapause development of eggs of *O. brumata* populations from Central Bohemia established at constant temperatures do not correspond with SET recorded in the field. SET determined in the field were substantially lower, the development proceeded at a faster rate. The development rate may be increased especially by fluctuating temperatures which were reported to accelerate developmental processes (Kaster, Showers, 1984). But in case of *O. brumata*, the cause of lower SET in the field when compared with laboratory experiments presumably are different. In the period we recorded SET under constant temperatures (January, February), egg diapause development in field conditions did not yet terminate. Thus, we determined SET at constant temperatures which did not correspond to SET values for the simulation of diapause development in field conditions.

Low applicability of egg diapause development SET (as determined at constant temperatures) for predicting the timing of larval eclosion in orchards was also reported for other moth species (Levine, 1988, Volney,

Liebhold, 1985). Attempts to devise a model for predicting the timing of *O. brumata* larval eclosion in field conditions based on SET determination in laboratory experiments were unsuccessful. In practical *O. brumata* control, sums of effective temperatures established using regression can be employed to determine the timing of larval eclosion of *O. brumata*. In conditions of Central Bohemia, the peak in larval eclosion was recorded at SET of  $55.3 \pm 8.4$  °C above a threshold of 5.6 °C (recorded from January 1). This sum can be used to estimate the optimum timing of the treatment to be applied against the pest at the time of the peak in larval eclosion.

#### Acknowledgement

The authors wish to thank Dr. K ř e č e k and Dr. L i š k a from the Institute of Organic Chemistry and Biochemistry of the Czechoslovak Academy of Sciences and to fruit growers at Ž e ř u š i c e and at Roudnice for providing with the winter moth individuals used in the experiments.

#### References

- BRIGGS, J. B.: Some features of the biology of the winter moth *Operophtera brumata* (L.) on top fruits. J. Hort. Sci., 72, 1957; 108-125.
- ERBENOVÁ, M. - LÁNSKÝ, M. - KNEIFL, V.: Usměrněná ochrana jabloní, třešní, višň. Metodiky pro zavádění výsledků výzkumu, S - I., ÚVTIZ, 1987; 44 p.
- KASTER, L. V. - SHOWERS, W. B.: Modeling black cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) field development in Iowa. Envir. Ent., 13, 1984; 384-389.
- KIMBERLING, D. N. - MILLER, J. C.: Effect of temperature on larval eclosion of the winter moth, *Operophtera brumata*. Entomol. exp. appl., 47, 1988; 249-254.
- KOZHANCHIKOV, I. V.: Life cycle development and geographical distribution of frost spanworm, *Operophtera brumata* (L.). (In Russian). Ent. Obozr., 31, 1950; 178-197.
- LEVINE, E.: Diapause termination and post-diapause development in eggs of *Hydraecia immanis* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). Envir. Ent., 17, 1988(1); 80-85.
- VOLNEY, W. J. A. - LIEBHOLD, A. M.: Post-diapause development of sympatric *Choristoneura occidentalis* and *C. retiniana* (Lepidoptera: Tortricidae) and their hybrids. Can. Ent., 117, 1985; 1479-1488.
- WYLIE, H. G.: Some factors that effect the annual cycle of the winter moth, *Operophtera brumata* (L.) (Lepidoptera: Geometridae) in western Europe. Entomol. exp. appl., 3, 1960; 93-102.

Received for publication April 9, 1992

F. Kocourek, J. Beránková (Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha-Ruzyně)

### Zjišťování doby líhnutí housenek píďalky podzimní, *Operophtera brumata* L.

Cílem práce bylo zjistit u populací píďalky podzimní z různých hostitelských rostlin teplotní požadavky (sumu efektivních teplot, spodní práh vývoje) pro postdiapauzní vývoj vajíček a ověřit jejich platnost pro předpověď termínu líhnutí housenek v přirozených podmínkách.

Pokusný materiál byl získáván sběrem spářených jedinců píďalky podzimní na bucích, dubech, jabloních, hrušních a višních v průběhu měsíců listopad a prosinec. Samice kladly vajíčka v izolátorech, zavěšených do korun stromů. Vajíčka ze všech lokalit přezimovala v přirozených podmínkách v sadu v Ruzyni. Pokusy probíhaly v letech 1987 až 1989.

Líhnutí housenek bylo zjišťováno v termostatech při konstantních teplotách 12, 15, 18 a 21 °C. Počty vylíhlých housenek byly vyjádřeny v kumulativních procentech, které byly pro výpočty převedeny na probity. Pro každou variantu teploty byla zjištěna závislost mezi rychlostí vývoje a zjištěnými probity. Pro každou variantu pokusu podle hostitelských rostlin byly vypočteny rychlosti vývoje a sumy efektivních teplot pro 5, 50 a 95 % populace vylíhlých housenek. Při teplotě 12 °C byl dále zjišťován v čtyř populací vliv přerušení chladového období na průběh líhnutí housenek.

Průběh líhnutí píďalky podzimní v přirozených podmínkách byl vyjádřen v kumulativních procesech v závislosti na kalendářních datech a v sumách efektivních teplot (SET). Efektivní teploty byly vypočítány z denních maxim a minim nad prahem vývoje 5,6 °C.

Teplotní charakteristiky pro diapauzní vývoj vajíček naměřené v konstantních teplotách se značně lišily mezi populacemi i roky sledování a také v závislosti na termínu přerušení chladového období. Prahy vývoje kolísaly od 4,6 do 6,5 °C, sumy efektivních teplot kolísaly pro medián líhnutí v rozmezí od 120 do 414 °C. Prodloužení chladového období v lednu až únoru mělo podstatný vliv na zkrácení SET pro vývoj. Předpokládáme, že určitý vývoj vajíček musel probíhat již při teplotách pod prahem vývoje. Období diapauzního vývoje vajíček bylo natolik dlouhé, že se období postdiapauzní quiescence nevyskytovalo. Diapauzní vývoj přecházel plynule do vývoje postdiapauzního. To jsou pravděpodobné příčiny, proč sumy efektivních teplot pro postdiapauzní vývoj vajíček píďalky podzimní zjištěné v konstantních teplotách nejsou využitelné pro předpověď líhnutí v přírodě.

V přirozených podmínkách se populace podle hostitelských rostlin líhly v pořadí: višně, jabloně a hrušně, buky, duby. SET v přírodě se pohybovaly v průměru 55,3 ± 8,4 °C nad prahem 5,6 °C v závislosti na hostitelské rostlině a ročníku sledování. Uvedenou sumu teplot je možné využít pro signalizaci termínu ošetření v době maxima líhnutí housenek píďalky podzimní. Předpověď podle regresního teplotního modelu postdiapauzního vývoje vajíček sestaveného z dat naměřených v přírodě je podstatně přesnější než podle deterministického modelu sestaveného z dat naměřených v laboratoři.

diapauza; vývoj vajíček; fenologie; sumy efektivních teplot; integrovaná ochrana

## INSTITUTE OF SCIENTIFIC AND TECHNICAL INFORMATION FOR AGRICULTURE

Slezská 7, CS 120 56 Praha 2, ČSFR, FAX.: (004222) 25 70 90

In this institute scientific journals dealing with the problems of agriculture and related sciences are published on behalf of the Academy of Agricultural Sciences of the CSFR. The periodicals are published in the Czech or Slovak languages with summaries in English or in English with summaries in Czech or Slovak, except *Scientia agriculturae bohemoslovaca*, which is in the English language only.

Subscription to these journals be sent to the above-mentioned address.

Periodical	Number of	
	issues per year	pages
Rostlinná výroba (Plant Production)	12	96
Veterinární medicína (Veterinary Medicine)	12	64
Živočišná výroba (Animal Production)	12	96
Zemědělská ekonomika (Agricultural Economics)	6	64
Lesnictví (Forestry)	12	96
Zemědělská technika (Agricultural Engineering)	12	96
Ochrana rostlin (Plant Protection)	4	80
Genetika a šlechtění (Genetics and Plant Breeding)	4	96
Zahradnictví (Horticulture)	4	80
Potravinářské vědy (Food Sciences)	4	80
<i>Scientia agriculturae bohemoslovaca</i>	4	96
Pedologie a meliorace (Soil Science and Amelioration)	2	80
Sociologie venkova a zemědělství (Rural and Agricultural Sociology)	2	80

## COMPARING SOME BIOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL DIFFERENCES OF SUSCEPTIBLE AND RESISTANT COMMON GROUNDSSEL (*SENECIO VULGARIS* L.)

Daniela CHODOVÁ, Jan MIKULKA

Research Institute for Plant Production, CS-161 06 Praha - Ruzyně, Czechoslovakia

Some biological and physiological differences of atrazin susceptible and atrazin resistant common groundsel (*Senecio vulgaris* L.) were compared. Both biotypes were differentiated by the method of slow fluorescence induction. The resistant biotype showed (4, 7, 10, 14 and 21 days after sowing) a lower percentage of germination activity than the susceptible one (the differences were not significant). However, three, four, five and six weeks after sowing, the resistant biotype had shorter aboveground parts of plants (significant differences), a lower number of leaves (significant differences five weeks after sowing), a lower fresh matter of aboveground parts (significant differences four, five and six weeks after sowing) and a lower dry matter of aboveground parts (significant differences). The resistant common groundsel showed, in comparison to the susceptible one, a lower chloroplast photochemical activity expressed by oxygen production and lower values of net photosynthesis expressed by carbon dioxide consumption. It is probable that a deterioration of chloroplasts function in relation to atrazin resistant common groundsel inhibits the growth and the productivity of the whole plant.

*Senecio vulgaris* L.; resistance to atrazine; biology; Hill's reaction; photosynthesis

Weed resistance to herbicides calls for studying population dynamics and biology of resistant biotypes, because it is necessary to prevent propagation of resistant populations. Some results informing about transformations of weed populations with regard to occurrence of pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.) and other atrazin resistant weed have been published already (Cifera et al., 1992; Chodová, 1988; Mikulka, 1988, 1991; Chodová, Mikulka, 1991).

In atrazin resistant weeds there is a mutation in chloroplast gene coding 32 kD protein designated as  $Q_2$ . This protein is binding herbicide. As a result of mutation, protein affinity for atrazin molecule is reduced which causes at least ten times slower electron transmission in photosystem II than in resistant weed chloroplasts (Holt, 1990).

Number of authors have studied biological properties of susceptible and resistant weeds. The majority of results show that susceptible biotypes have better growth, a higher seed production and a higher competitiveness (Holt,

1988). However, some results are not explicit and for that reason biological and physiological differences of both common groundsel biotypes were studied. This paper presents some biological differences in common groundsel grown in standard conditions, as well as results of photosynthetic studies - measuring photochemical activity of chloroplasts (photosystem II) and measuring of CO<sub>2</sub> fixation.

## MATERIAL and METHODS

**Experimental plants** - Common groundsel (*Senecio vulgaris* L.) susceptible biotype seeds were obtained by collecting plants on experimental plots of the Research Institute of Plant Production in 1989. Resistant biotype seeds were collected from resistant common groundsel plants in apple orchard in Medvědice (Lovosice region) in 1989. In this place, the resistant groundsel was evidenced in 1988 already.

Susceptible and resistant biotype was differentiated by the slow fluorescence induction method (C h o d o v á , M i k u l k a , 1991) on fluorometer SF 30 (Richard Brancker, Canada). Different fluorescence course of susceptible and resistant groundsel in the presence of atrazin is brought up in the chapter Results.

**Growing plants** - Seeds of susceptible and resistant common groundsel were sown by twenty achenes into containers (18 x 18 cm) filled with top soil. The plants were grown in climabox Rumed at 18 °C, at 60-80 % humidity and at an illumination by fluorescent lamps of 12 000 lx. There were always six containers of each biotype. The experiment was replicated five times.

**Plant analyses** - Germinating capacity of plants was established in the intervals of 4, 7, 10, 14, 21 and 28 days after sowing. The number of sprouted plants in each container was evaluated. The length of plants and number of leaves were evaluated three to six weeks after sowing, in the same intervals fresh and dry matter (at 75 °C) were evaluated.

**Measuring photochemical activity of isolated chloroplasts** - Measuring of this activity is based on polarographic measuring of oxygen production by electrode of Clark's type in chloroplasts isolated from susceptible and resistant biotype. Isolation of chloroplasts, as well as measuring of photochemical activity, is described in detail in our paper (K o č o v á et al., 1988). According to recordings of the registration apparatus and after calculation with respect to chlorophyll concentration in leaves, the values are expressed as quantity of oxygen related on unit of chlorophyll content per sec. Photochemical activity of chloroplasts from groundsel leaves was measured in the presence of atrazin in concentration of 10<sup>-3</sup> to 10<sup>-7</sup> mol/l a. s. Zeazin DP 50. The herbicide was added directly to chloroplast suspension as described in our paper (C h o d o v á et al.,

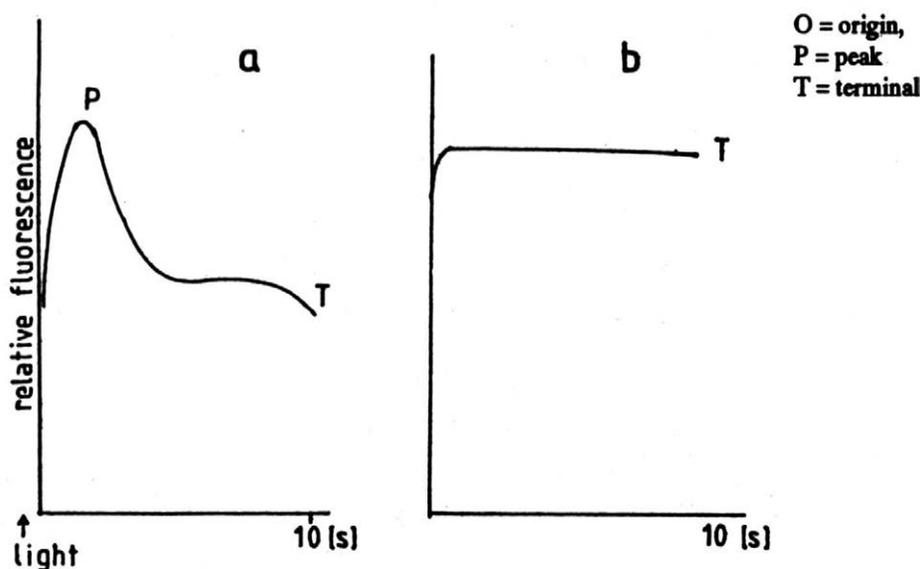
1989). Leaves of plants in four to five leaves stage were used for measuring. The experiment was replicated five times.

**Measuring net photosynthesis** - The fixation of  $\text{CO}_2$  was measured on the the 4th and 5th leaf of plant four weeks after sowing in susceptible, as well as in resistant common groundsel. Photosynthesis was measured on the apparatus LI 6000 (LI COR, USA). Net photosynthesis in  $\mu\text{mol CO}_2$  per  $\text{m}^2 \cdot \text{s}$  was measured. Irradiation of leaves oscillated between 0 and  $1000 \mu\text{mol per m}^2 \cdot \text{s}$  of photosynthetically active radiation, the average leaf temperature was  $22 - 24^\circ \text{C}$ . Every time six susceptible and six resistant plants were measured. Leaf area was measured after finishing the experiment by leaf area measurer LI 3000 (LI COR, USA).

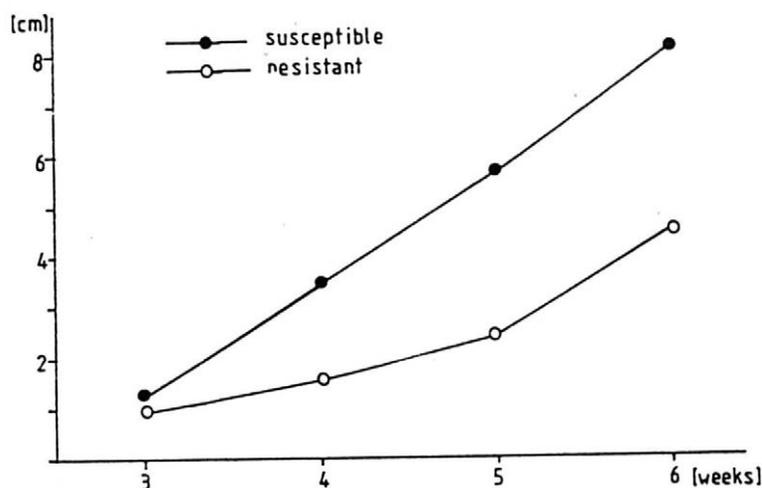
**Statistical evaluation** - The results were evaluated by *t*-test (H r u b ý , K o n v i č k a , 1954). Conclusive *t* values are valid for  $P < 0,05$ .

## RESULTS and DISCUSSION

Susceptible and resistant biotypes were distinguished by fluorescence method. In Fig. 1 is the graph of slow fluorescence induction in atrazin susceptible and atrazin resistant common groundsel in the presence of atrazin.

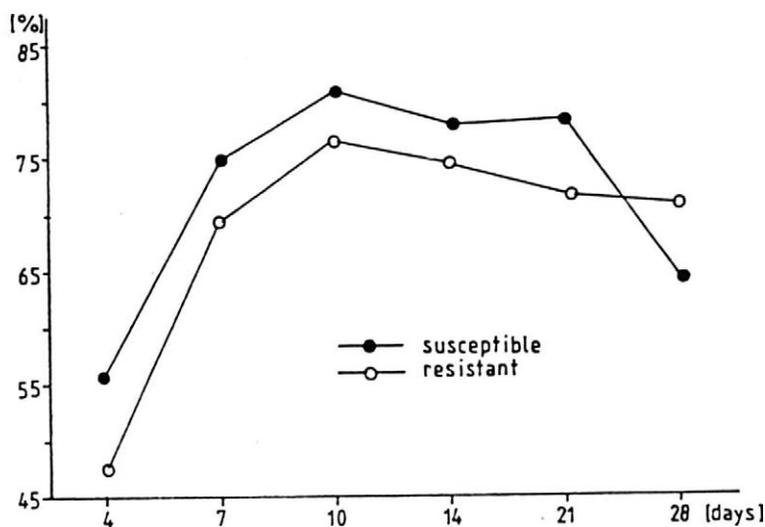


1. Curves of slow fluorescence induction of common groundsel (*Senecio vulgaris* L.) atrazin resistant (A) and susceptible (B) after application of  $10^{-4}$  mol/l of atrazin



2. Percentage of germination of common groundsel (*Senecio vulgaris* L.) susceptible and resistant biotype

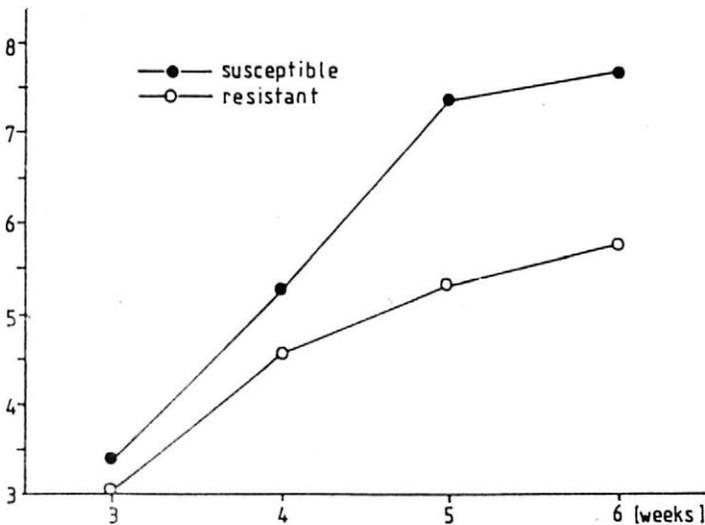
In the presence of atrazin in a concentration of  $10^{-4}$  mol/l, the resistant biotype had growing and decreasing fluorescence phase. In the susceptible biotype curve, there is not an evident decline of the fluorescence curve: the curve has a typical fluorescence course, characteristic for inhibition of photosystem II.



3. The length (in cm) of aboveground parts in susceptible and resistant common groundsel (*Senecio vulgaris* L.) biotype

Results informing about germinating power of both biotypes are given in the Fig. 2. The percentage of germinated plants of susceptible common groundsel was about 56-81 % of sown seeds and about 48 - 77 % in resistant biotype. A lower germinating power was found in the resistant groundsel at different days after the sowing, but the differences were not conclusive.

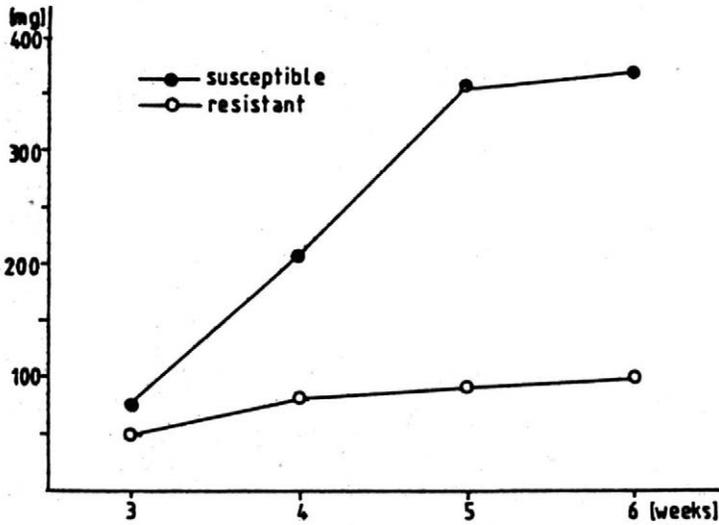
The susceptible biotype had conclusively higher values of aboveground parts length four, five and six weeks after sowing than the resistant one (Fig. 3). Equally in Holt's experiments (H o l t , 1988), the length of resistant common groundsel was suppressed and reached the values of 40,70 and 90 % of the resistant groundsel length six, eight and ten weeks after sowing. H o l t and R a d o s e v i c h (1983) found the same relationship between the length of biotypes: the ratio of the length of the resistant biotype and the susceptible one was about 55 to 72 % (three to six weeks after sowing).



4. The number of leaves of susceptible and resistant common groundsel (*Senecio vulgaris* L.) biotype (average per plant)

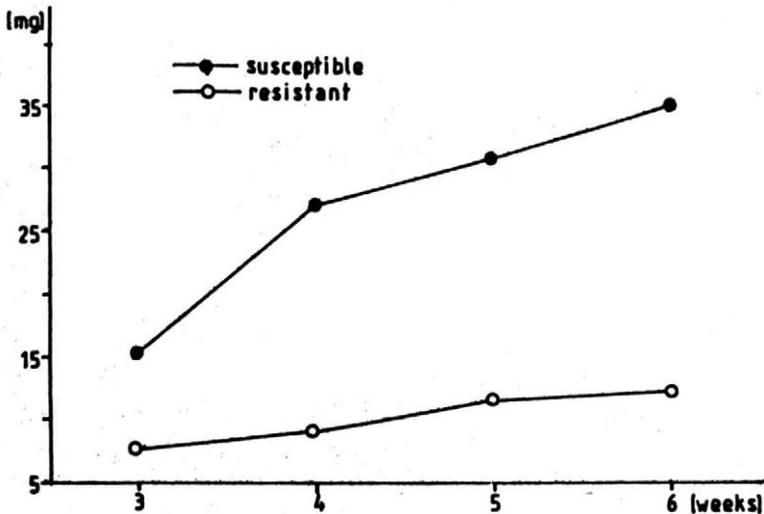
Susceptible plants had a higher number of leaves three, four, five and six weeks after sowing, however the differences between biotypes were not conclusive (Fig. 4). A lower number of leaves was found by H o l t (1988) in resistant biotype, however, the differences were conclusive only five weeks after sowing, but not on the other dates (four, six and seven weeks after sowing).

Fresh matter of aboveground parts was higher in susceptible biotype than in the resistant one (Fig. 5). The differences were conclusive four, five and six

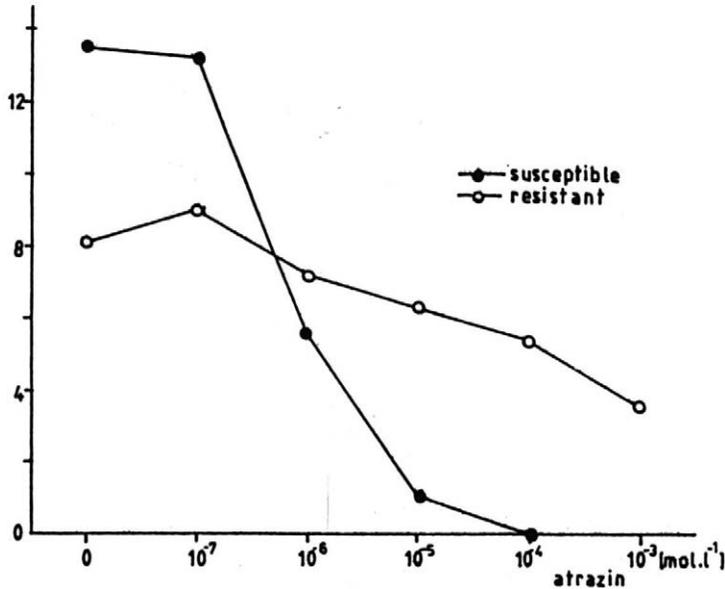


5. Fresh matter of aboveground parts of susceptible and resistant common groundsel (*Senecio vulgaris* L.) biotype in mg (average per plant)

weeks after sowing. Holt and Goffner (1985) indicate six weeks after sowing nearly a double reduction of resistant biotype matter of aboveground parts when compared to susceptible biotype. In our experiments, this matter reduction in resistant biotype was about 3,8 times.



6. Dry matter of aboveground parts of susceptible and resistant common groundsel (*Senecio vulgaris* L.) biotype in mg (average per plant)

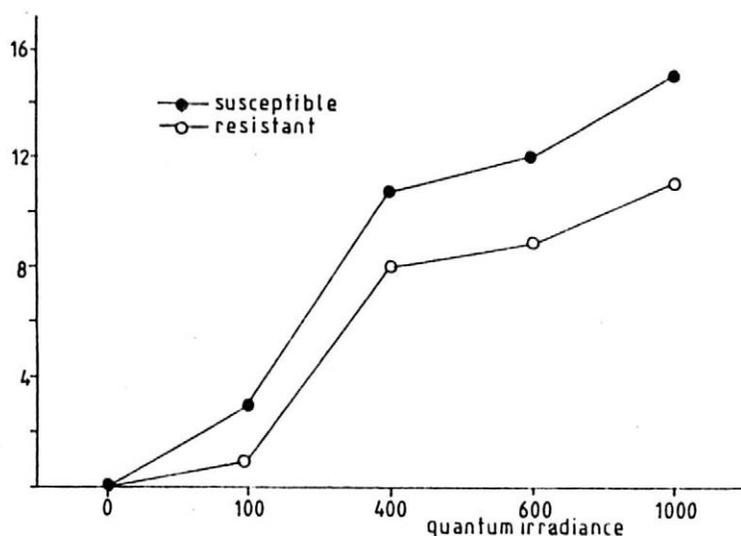


7. Hill's reaction activity in susceptible and resistant common groundsel (*Senecio vulgaris* L.) biotype in mmol O<sub>2</sub> · kg<sup>-1</sup> of chlorophyll · s<sup>-1</sup> after application of atrazin 10<sup>-3</sup> to 10<sup>-7</sup> mol · l<sup>-1</sup>

Dry matter was in susceptible biotype higher three, four, five and six weeks after sowing, the differences were conclusive at all the dates. A higher dry matter in susceptible groundsel was established by Holt (1990), but he observed dry matter of the whole plant (aboveground parts and roots). Considering physiological experiments (photosynthesis), only aboveground parts matter was observed.

Values of chloroplasts photochemical activity (Hill's reaction) are given in the Fig. 7 and that for control also after application of atrazine in concentrations.

Values of Hill's reaction activity, that is photochemical activity, expressed by oxygen production, reach still at 10<sup>-3</sup> mol/l a. s. of atrazine 44 % of the resistant biotype control. In the susceptible biotype the value of 41 % of the control is obtained with the atrazine concentration 10<sup>-6</sup> mol/l a. s. (which is 1000 times lower). Control chloroplasts (without herbicide) show conclusively higher oxygen production in the susceptible biotype in comparison with the resistant one (the difference is 66 %). According to Holt et al. (1981), the differences between biotypes with the same light intensity allow to presume that in the resistant biotype there are less active reaction centres with a lower photoactivity. As a consequence of change of binding relations for triazines in resistant weeds, oxidation place photosystem II may be changed, so that photochemical electron transport is less effective.



8. Net photosynthesis in  $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  susceptible and resistant common groundsel (*Senecio vulgaris* L.) in dependence on active quantum irradiance in  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$

Values of net photosynthesis are given in Fig. 8 in dependence on photosynthetically active radiation.

Susceptible groundsel showed higher values of net photosynthesis expressed by  $\text{CO}_2$  consumption at all studied radiation intensities. The highest radiation intensity was optimal. At that intensity, the difference between both biotypes was the highest. A higher common groundsel photosynthetic capacity by different light intensities was confirmed by Holt (1988).

In our experiments, susceptible and resistant groundsel from the territory of the Czech Republic were compared. Susceptible groundsel showed higher values of examined growth indicators, especially conclusive differences in plant length, fresh matter and dry matter of aboveground parts. In the same time, susceptible groundsel plants have a higher vitality measured by the activity of photosystem II and by the net photosynthesis.

Results of our experiments confirm the opinion that a degradation of the function of resistant groundsel chloroplasts is limiting the growth and the productivity of the whole plant (Mc Closkey and Holt, 1990). In field conditions and in the absence of atrazin, the more vital susceptible biotype would eliminate the resistant one. The resistant biotype could prevail in the places, where the susceptible one is present in a relatively low density or where triazine herbicides are intensively applied (Conard, Radosevich, 1979).

## References

- CIFERA, F.- CHODOVÁ, D.- MIKULKA, J. : Výskyt laskavce ohnutého rezistentního vůči atrazinu na Slánsku. *Agrochémia*, 32, 1992 : 16-19.
- Mc CLOSKEY, W. B.- HOLT, J. S. : Triazine resistance in *Senecio vulgaris* parental and nearly isonuclear backcrossed biotypes I, correlated with reduced productivity. *Pl. Physiol.*, 92, 1990 : 954-962.
- CONARD, S. G. - RADOSEVICH, S. R.: Ecological fitness of *Senecio vulgaris* and *Amaranthus retroflexus* biotypes susceptible or resistant to atrazin. *J. appl. Ecol.*, 16, 1979 : 171-177.
- HOLT, J. S.: Reduced growth, competitiveness, and photosynthetic efficiency of triazine resistant *Senecio vulgaris* from California. *J. Appl. Ecol.*, 25, 1988 : 307-318.
- HOLT, J. S. : Fitness and ecological adaptability of herbicide resistant biotypes. In: *Managing resistance to agrochemicals: From Fundamental Research to Practical Strategies*. ACS Symp. No 421, 1990 : 420-429.
- HOLT, J. S. - GOFFNER, D. P.: Altered leaf structure and function in triazine resistant common groundsel. *Pl. Physiol.*, 79, 1985 : 699 -705.
- HOLT, J. S. - RADOSEVICH, S. R.: Differential growth of two common groundsel biotypes. *Weed Sci.*, 31, 1983 : 112-120.
- HOLT, J. S. - STEMLER, A. J. - RADOSEVICH, S. R.: Differential light responses of photosynthesis by triazine resistant and triazine susceptible *Senecio vulgaris* biotypes. *Pl. Physiol.*, 67, 1981 : 744-748.
- HRUBÝ, K. - KONVIČKA, O.: *Polní pokusy, jejich zakládání a hodnocení*. Olomouc, 1954 : 273 p.
- CHODOVÁ, D.: Searching for atrazine resistant weed populations in Czechoslovakia. *Fragm. herbolog. Jugosl.*, 17, 1988 : 37-43.
- CHODOVÁ, D. - KOČOVÁ, M. - MIKULKA, J.: Metoda testování rezistentních a citlivých biotypů plevelů vůči herbicidu atrazin. *Agrochémia*, 29, 1989, s.14-17.
- CHODOVÁ, D. - MIKULKA, J.: Pomalá fluorescenční indukce - metoda diagnostiky vůči atrazinu rezistentních biotypů plevelů. *Agrochémia*, 31, 1991 : 274-277.
- KOČOVÁ, M. - CHODOVÁ, D. - MIKULKA, J. : Využití metody Hillovy reakce pro rozlišování biotypů plevelů rezistentních a citlivých vůči atrazinu. *Agrochémia*, 28, 1988 : 87-90.
- MIKULKA, J. : Differential sensitivities of *Chenopodium album* biotypes resistant and sensitive to herbicides. *Fragm. herbol. Jugosl.*, 17, 1988 : 55-62.
- MIKULKA, J. : Současné poznatky o rezistenci plevelů vůči herbicidům. *Agrochémia*, 31, 1991 : 53 - 54.

Received for publication May 15, 1992

D. Chodová, J. Mikulka (Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha - Ruzyně)

Srovnání některých biologických a fyziologických rozdílů citlivého a rezistentního starčeku obecného (*Senecio vulgaris* L.)

Byly porovnány některé biologické a fyziologické rozdíly vůči atrazinu citlivého a rezistentního starčeku obecného (*Senecio vulgaris* L.). Oba biotypy byly rozlišeny metodou pomalé fluorescenční indukce na fluorometru SF 30. V přítomnosti atrazinu

( $10^{-4}$  mol/l) vykazoval rezistentní biotyp starčeku obecného nárůstovou a klesající fází fluorescence. U křivky citlivého biotypu nebyl zřejmý pokles fluorescenční křivky. Semena citlivého biotypu byla získána sběrem na pozemku VÚRV, semena biotypu rezistentního v jabloňovém sadu v Medvědicích na Lovosicku. V intervalech po výsevu bylo hodnoceno procento klíčivosti, délka rostlin, počet listů, čerstvá hmotnost a sušina (při  $75^{\circ}\text{C}$ ). Za čtyři týdny po výsevu byla hodnocena fotochemická aktivita izolovaných chloroplastů (Hillova reakce) v přítomnosti  $10^{-3}$  až  $10^{-7}$  mol/l atrazinu a bez herbicidu. Hodnocení této aktivity je založeno na polarografickém měření produkce kyslíku elektrodou Clarkova typu. Rychlost fotosyntézy byla měřena za čtyři týdny po výsevu u čtvrtého a pátého listu na přístroji LI 6000, a to spotřebou  $\text{CO}_2$  v  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Ozářenost listů byla od 0 do  $1000\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  fotosynteticky aktivního záření, teplota listu  $22$  až  $24^{\circ}\text{C}$ . Rezistentní biotyp vykazoval za 4, 7, 10, 14 a 21 dní po výsevu semen nižší procento klíčivosti proti biotypu citlivému (rozdíly neprůkazné). Za tři, čtyři, pět a šest týdnů po výsevu vykazoval rezistentní biotyp nižší délku nadzemních částí (průkazné rozdíly), nižší počet listů (průkazný rozdíl za pět týdnů), nižší čerstvou hmotnost nadzemních částí (průkazný rozdíl za čtyři, pět a šest týdnů) a nižší hmotnost sušiny nadzemních částí (průkazné rozdíly). Kontrolní chloroplasty (bez herbicidu) vykazaly průkazně vyšší produkci kyslíku u citlivého biotypu proti rezistentnímu o 66 %. Po přidání atrazinu byla hodnota Hillovy reakce, vyjádřená produkcí kyslíku, u rezistentního biotypu ještě při koncentraci  $10^{-3}$  mol/l atrazinu 44 % kontroly. U citlivého biotypu byla hodnota 41 % kontroly dosažena při koncentraci atrazinu  $10^{-6}$  mol/l. Je pravděpodobné, že zhoršení funkce chloroplastů vůči atrazinu rezistentního starčeku obecného vyvolává inhibici růstu a produktivity celé rostliny.

*Senecio vulgaris* L.; rezistence vůči atrazinu; biologie; Hillova reakce; fotosyntéza

## PŘÍPRAVA SPECIFICKÝCH PROTILÁTEK PRO DETEKCI BAKTÉRIÍ *ERWINIA AMYLOVORA*

Ivan MRÁZ

Výzkumný ústav rostlinné výroby, 161 06 Praha 6 - Ruzyně

Na přípravu antigenů jsme použili izoláty *Erwinia amylovora* získané z hlohů a hrušní z území Čech. Králíky jsme injikovali baktériemi buď v živém stavu, nebo baktériemi usmrčenými teplem, fenolem či formalínem. Při některých injikacích jsme použili antigen ve směsi s adjuvans (Al-span-oil, dvousložkové). Použili jsme různých způsobů injikací a jejich kombinací (intravenózní - subkutánní, intramuskulární - subkutánní) a opakovanou imunizací. Každý imunizační cyklus jsme současně prováděli na dvou až pěti zvířatech. Nejvyššího titru antiséra jsme dosáhli, když jsme antigen injikovali živý. Horších výsledků jsme dosáhli u antisér vyrobených proti antigenům usmrčeným formalínem a teplem bez použití adjuvans. Na výšku titru neměl vliv počet injikací a celkové množství podaného antigenu. Osvědčila se subkutánní aplikace antigenu. Nejvyššího stupně specifčnosti jsme dosáhli u těch antisér, jejichž antigen jsme usmrtili formalínem. Horší výsledky jsme obdrželi u antisér, která jsme vyrobili proti antigenům živým a usmrčeným fenolem nebo teplem. Pro zvýšení specifčnosti byly vhodné intramuskulární, popřípadě subkutánní injikace, nízký počet injikací (2-5) o malých dávkách antigenu (0,1-2,0 ml) a podání celkově menšího objemu antigenu během celého imunizačního cyklu. Použití adjuvans při imunizaci specifčnost antisér zvýšilo.

*Erwinia amylovora*; sérologie; imunizace; antigen; antisérum

K nejobávanějším fytopatogenním mikroorganismům patří druh baktérií *Erwinia amylovora*, původce spály růžovitých rostlin. Tento druh se považuje za zvláště nebezpečného škodlivého činitele podléhajícího kontrole a povinnému hubení.

Po proniknutí patogena na území Čech v roce 1986 (K u d e l a , 1988) bylo třeba zabezpečit rychlou metodu identifikace původce spály růžovitých, a to pomocí diagnostických antisér vyrobených proti druhu *Erwinia amylovora*.

Pro determinaci patogena *Erwinia amylovora* našly široké uplatnění sérologické diagnostické metody, neboť izoláty *Erwinia amylovora* vykazují relativně vysoký stupeň homogenity a získaná polyklonální antiséra jen ve velmi malém měřítku aglutinují s jinými druhy baktérií (V a n t o m m e et al., 1982).

Sklíčková aglutinační metoda je nejrychlejší a zároveň i přesnou metodou pro rutinní determinaci patogena *Erwinia amylovora* a lze říci, že v současné době víceméně jedinečně uplatňovanou (K ů d e l a , 1990).

## MATERIÁL a METODY

**Příprava antigenů a imunizace králíků** - na přípravu antigenů k imunizaci králíků jsme použili osm izolátů *Erwinia amylovora* (Ea 2201, 208, 502, 235, 0802, 531, 6, 72) ze sbírky oddělení bakteriologie VÚRV v Praze-Ružyni. Izoláty pocházely z hlohů a hrušní z lokalit ve středních a severních Čechách.

Při přípravě první série antigenů jsme použili postupu, který popsali J e r m o l j e v a P o z d ě n a (1972). Baktérie jsme usmrtili teplem (ponechány jednu hodinu ve vodní lázni o teplotě 60 °C) nebo 0,2% roztokem formaldehydu. V obou případech jsme použili bakteriální kulturu o stáří 48 hodin, hustota bakteriální suspenze činila  $10^8$  CFU/ml (colony forming units, tj. počet bakteriálních buněk tvořících kolonie v 1 ml). Antigen jsme injikovali ve směsi s adjuvans.

Při druhé sérii přípravy antigenů jsme postupovali podle návodů, které uveřejnili C a l z o l a r i et al. (1982) a J e r m o l j e v a P o z d ě n a (1972). Baktérie jsme před injikací usmrtili teplem.

Antigeny jsme usmrcovali také fenolem (L a r o c h e , V e r h o y e n , 1986) a formalínem (D i c k e y et al., 1987; D e B o e r et al., 1979). V některých případech jsme prováděli aplikaci antigenů v živém stavu.

V imunizačním cyklu jsme v jednotlivých variantách aplikovali od dvou do osmi injikací antigenu, celkové množství podaného antigenu u jednoho zvířete během imunizačního cyklu činilo 1,4 až 14,0 ml, tj. průměrně 0,28 až 2,80 ml antigenu na jednu injikaci. Každý imunizační cyklus jsme opakovali zpravidla na dvou až pěti zvířatech.

Pro zvýšení titru jsme při imunizaci použili adjuvanční techniku, kombinovaný způsob injikací a nakonec i opakovanou imunizaci (R e g e n m o r t e l , E n g e l b r e c h t , 1962; H a m a n n , 1962).

Po skončení imunizace jsme králíkům odebrali krev z ušní vény. Při výrobě antisér *Erwinia amylovora* jsme použili postup, který uveřejnili J e r m o l j e v a P o z d ě n a (1972).

**Stanovení titru a speciřičnosti antiséra** - stanovení titru antisér *Erwinia amylovora* jsme prováděli kapkovou aglutinační metodou. Antigen jsme používali v ředění  $10^9$  CFU/ml.

U vyrobených antisér *Erwinia amylovora* jsme odzkoušeli jejich specifičnost s vybranými zástupci těchto bakterií: *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow, Buchanan, Krumwiede, Rogers et Smith 1920; *Erwinia herbicola* (Löhnis) Dye 1964; *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall 1902; *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis* (Pierce) Dye 1978; *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense* (Smith) Dye & Kemp 1977 a *Agrobacterium tumefaciens* (Smith & Townsend) Conn 1942. Do pokusů jsme zařadili kontrolní reakce antisér se sterilní vodou a antigenu se sérem z neimunizovaného králíka.

**Zvýšení titru antisér** - z prostředků doporučených pro zvýšení titru antiséra jsme použili opakovanou imunizaci, adjuvanční techniku imunizace, kombinovaný způsob imunizace a delipidizaci již vyrobeného antiséra.

Při opakované imunizaci jsme po ukončení imunizačního cyklu a částečném odběru krve nechali králíka v klidu a po 8 až 12 týdnech jsme jej opět imunizovali stejným antigenem. Využili jsme přitom poznatků, které uvádí např. H a m a n n (1962).

Při použití adjuvanční techniky imunizace jsme při intramuskulárních či subkutánních injikacích v některých případech používali suspenze antigenu a adjuvans za účelem pomalejšího uvolňování antigenu po injikaci. Jako adjuvancia jsme používali dvousložkové adjuvans Al-span-oil.

Při kombinovaných způsobech imunizace jsme při injikaci antigenu použili kombinace intravenózních a subkutánních a intramuskulárních a subkutánních injikací. V případě subkutánních a intramuskulárních injikací jsme v některých případech použili rovněž adjuvans.

Pro zvýšení titru a oddělení balastních látek obsažených ve vyrobených antisérech jsme použili metodu delipidizace. Delipidizaci jsme prováděly podle K á š e a K r á l o v é (1971).

**Zvýšení specifičnosti vyrobených antisér** - pro zvýšení specifičnosti antisér jsme použili izolaci gamaglobulinů a vysycování antisér. Pro zamezení křížových reakcí jsme pak používali ředění antisér.

Při izolaci gamaglobulinů jsme postupovali podle metody, kterou publikoval P o z d ě n a (1967). Izolované sérové globuliny ve fyziologickém roztoku jsme odzkoušeli na výšku titru a specifičnost jako normální antiséra.

Nespecifičnost antisér jsme se rovněž snažili odstranit vysycováním antiséra. Vysycování proti jednomu antigenu jsme prováděli i vícekrát (docházelo-li stále ke křížovým reakcím). Reagovalo-li antisérum nespecifičky s více antigeny, prováděli jsme vysycování antiséra postupně proti jednotlivým antigenům.

Při ředění antisér jsme antisérum, které vykazovalo křížové reakce, naředili fyziologickým roztokem na takové ředění, při němž již s heterogenními antigeny nereagovalo, ale reakce s homologním antigenem byla naprosto jednoznačná a zřetelná.

### VÝSLEDKY a DISKUSE

Nejvyššího titru jsme dosáhli u antisér připravených proti živému antigenu. Horších výsledků jsme pak dosáhli u antisér vyrobených proti antigenům usmrceným formalínem a teplem (tab.I).

I. Vliv různé přípravy antigenu na výšku titru antisér *Erwinia amylovora* - The effect of different methods of antigen preparation on the titre value of *Erwinia amylovora* antisera

Antigen <sup>1</sup>	Počet vyrobených antisér <sup>6</sup>	Titr antisér <sup>7</sup>		
		1 - 64	128 - 512	1024 - 2048
Živý <sup>2</sup>	3	0,0 <sup>+</sup>	66,6	33,3
Usmrcený teplem <sup>3</sup>	13	46,2	46,2	7,7
Usmrcený formalínem <sup>4</sup>	14	28,4	63,9	7,1
Usmrcený fenolem <sup>5</sup>	6	50,0	50,0	0,0

<sup>+</sup> - údaje uvedeny v procentech - the data are in per cent

<sup>1</sup>antigen; <sup>2</sup>live; <sup>3</sup>heat-killed; <sup>4</sup>formalive-killed; <sup>5</sup>phenol-killed; <sup>6</sup>number of produced antisera; <sup>7</sup>antiserum titre

Vliv použitého adjuvans na výšku titru nebyl zcela průkazný. Dvě antiséra s nejvyšším titrem jsme vyrobili bez použití adjuvans, avšak u následujících sedmi antisér jsme až na jednu výjimku adjuvans použili.

Výsledky rovněž ukázaly, že není přímá závislost mezi počtem injekcí a mezi celkovým množstvím podaného antigenu během imunizačního cyklu a výškou dosaženého titru.

Jako nejvhodnější se osvědčil subkutánní způsob aplikace antigenu, někdy pak kombinace subkutánních a intravenózních injekcí antigenu.

Nejvyššího stupně specifičnosti jsme dosáhli u těch antisér, jejichž antigen jsme usmrtili formalínem. Horší výsledky jsme obdrželi u antisér, která jsme vyrobili proti antigenu usmrcenému fenolem či teplem.

Živý antigen *Erwinia amylovora* jsme při imunizaci použili pouze u třech králíků. Vzhledem k malému počtu imunizovaných zvířat však nelze hovořit o průkazných výsledcích. Takto získaná antiséra vykazovala specifičnost přibližně na úrovni antisér vyrobených proti antigenům usmrceným formaldehydem či teplem.

Přehled křížových reakcí všech zkoušených (31 kusů) antisér *Erwinia amylovora* s vybranými baktériemi uvádí tab. II.

II. Testy specifičnosti vyrobených antisér *Erwinia amylovora* v koncentrovaném stavu - Specificity tests of produced antisera of *Erwinia amylovora* at concentrated state

Antigen <sup>1</sup>	Reakce antisér s jednotlivými antigeny <sup>2</sup>		
	počet antisér celkem <sup>3</sup>	antiséra Ea reagující pozitivně <sup>4</sup>	
		počet <sup>5</sup>	(%)
<i>Erwinia herbicola</i>	31	30	96,0
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	31	6	19,2
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>juglandis</i>	31	7	22,4
<i>Corynebacterium michiganense</i> pv. <i>michiganense</i>	31	16	51,2
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	31	17	54,4

<sup>1</sup> antigen; <sup>2</sup> antiserum reactions with the different antigens; <sup>3</sup> total number of antisera; <sup>4</sup> Ea antisera with positive reactions; <sup>5</sup> number

U dvou antisér s nejlepší specifičností jsme při injikaci jejich antigenu použili adjuvans. Avšak u následujících deseti antisér s nejvyšší specifičností nemělo použití adjuvans na výšku specifičnosti větší vliv.

Pro zvýšení specifičnosti byly výhodnější injekce intramuskulární, popřípadě subkutánní, nižší počet injikací (dvě až pět) o menších dávkách antigenu a podání celkově menšího objemu antigenu během celého imunizačního cyklu.

L a r o c h e a V e r h o y e n (1986) uvádějí, že nejvyšší specifičnosti antiséra se dosahuje při použití supernatantu z antigenu usmrceného fenolem. Ke stejným výsledkům dospěli i D i c k e y et al. (1987), kteří pro studium antiséra na plotnách s Ouchterlonyho dvojitou difúzí vůbec nedoporučují antigeny ošetřené teplem.

Titř antisér jsme se snažili zvyšovat opakovanou imunizací králíků, použitím adjuvanční techniky, kombinovanými způsoby injikace a delipidizací již vyrobeného antiséra. Při použití opakované imunizace, adjuvanční techniky a kombinovaných injikací antigenu se nám na rozdíl od některých autorů (H a m a n n , 1962; R e g e n m o r t e l , E n g e l b r e c h t , 1962) žádný z těchto prostředků pro zvýšení titru antiséra neosvědčil.

D e B o e r et al. (1979) uvádějí, že vyššího titru se dosáhne při použití živého nebo fixovaného antigenu (až 1:16 384), zatímco při použití antigenu usmrceného teplem se dosahuje titru 1:256 a méně. Dále uvádějí, že není patrný rozdíl v titru při použití intramuskulárních nebo intravenózních injikací zvláště a při jejich vzájemné kombinaci. Rozdíl v účinku antigenu živého a fixovaného glutaraldehydem je zanedbatelný, případné rozdíly v titru jsou dány senzitivitou králíků.

Při delipidizaci antisér byla situace poněkud jiná. Po první delipidizaci se u šesti z osmi antisér titer zvýšil, a to dosti podstatně. Po druhé a třetí delipidizaci byly výsledky již různorodější. Titr některých antisér se zvýšil nebo zůstal na stejné úrovni, u některých antisér došlo dokonce k poklesu titru (tab. III). Získané výsledky lze shrnout tak, že maximální efektivnost delipidizace antiséra se projeví po první delipidizaci, výsledky po druhé a třetí delipidizaci již nejsou tak jednoznačné.

### III. Porovnání titru antisér *Erwinia amylovora* před delipidizací a po ní - Comparison of the titres of *Erwinia amylovora* before and after delipidization

Antisérum <sup>1</sup>	Antigen <sup>2</sup>	Titr antiséra <sup>3</sup>			
		před delipidizací <sup>4</sup>	po delipidizaci <sup>5</sup>		
			I.	II.	III.
31	Ea 531	512	1024	128	128
32	Ea 531	128	1024	-	-
11	Ea 531	128	128	128	1024
23	Ea 502	32	256	64	128
29	Ea 6	256	128	128	1024
27	Ea 6	64	1024	512	512
24	Ea 0802	512	1024	64	2048
25	Ea 0802	128	1024	1024	1024

- další delipidizace nebyla prováděna - no other delipidization was made

<sup>1</sup>antisérum; <sup>2</sup>antigen; <sup>3</sup>antisérum titre; <sup>4</sup>before delipidization; <sup>5</sup>after delipidization

Blankov a Klebanov (1961) doporučují jednu hodinu před krvácením králíka aplikovat do ušní vény injekci heparinu, čímž se sníží obsah cholesterolu a betalipoproteinů. To jsou látky, které způsobují zakalení antisér. Čirá antiséra pak dávají lepší sérologické reakce, zejména při použití kapkové nebo kroužkové reakce (Bojarskij, 1964).

U již vyrobených antisér *Erwinia amylovora* jsme se snažili zvýšit jejich specifčnost vysycováním a izolací gamaglobulinů. K zamezení křížových reakcí jsme použili také ředění antisér.

Při vysycování antisér jsme sice odstranili křížové reakce antiséra, avšak po vysycení u nich velice znatelně poklesl titer (tab. IV). Vzhledem k velké časové náročnosti a pracnosti jsme tento způsob zvyšování specifčnosti nepoužívali ve větším měřítku.

Kabat (1958) a Kabat a Mayer (1965) uvádějí, že ani vpravení vysoce purifikovaného antigenu nezabrání vytvoření protilátky pouze proti této bílkovině. Odstranění těchto „cizorodých“ protilátek provádějí vysycováním. Uvádějí však, že vysycování je značně zdlouhavé, musí se často několikrát opakovat, zvyšuje riziko infekce antiséra a snižuje jeho množství.

IV. Titr antisér *Erwinia amylovora* před vysycením a po něm - The titres of *Erwinia amylovora* antisera before and after absorption

Antisérum <sup>1</sup>	Titr antiséra <sup>2</sup>		Počet vysycovaných cyklů u heterogenních antigenů <sup>5</sup>					
	před vysycením <sup>3</sup>	po vysycení <sup>4</sup>	<i>Eh</i> 2406	<i>Eh</i> 9/79	<i>Pss</i>	<i>Xcj</i>	<i>Agt</i>	<i>Cmm</i>
Ea 14	512	16	2	3	0	0	1	1
Ea 15	256	16	2	1	0	0	1	1
Ea 20	512	32	3	1	0	0	1	2
Ea 22	512	16	2	2	0	1	2	1
Ea 24	512	16	2	2	0	1	2	8
Ea 26	256	32	2	1	0	0	1	4

0 nedocházelo ke křížovým reakcím - no cross reactions

<sup>1</sup>antisérum; <sup>2</sup>antisérum titre; <sup>3</sup>before antiserum absorption; <sup>4</sup>after antiserum absorption; <sup>5</sup>number of absorption cycles in heterogeneous antigens

Platí pro tabulku IV a V - Holds for Table IV and V:

*Eh* 2406 = *E. herbicola* 2406; *Eh* 9/79 = *E. herbicola* 9/79; *Pss* = *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*; *Xcj* = *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis*; *Agt* = *Agrobacterium tumefaciens*; *Cmm* = *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense*; *Ea* M269 = *Enterobacter agglomerans* M269

V. Specifičnost antisér *Erwinia amylovora* před izolací gamaglobulinů a po ní - Specificity of *Erwinia amylovora* antisera before and after gammaglobulin isolation

Antisérum <sup>1</sup>	Antigen <sup>2</sup>	Titr As při reakci s homologním Ag <sup>3</sup>		Titr antiséra při reakci s heterogenními antigeny <sup>4</sup>					
				<i>Eh</i> 2406	<i>Pss</i>	<i>Xcj</i>	<i>Agt</i>	<i>Cmm</i>	<i>Ea</i> M269
23	Ea 502	A	256	512	256	256	8	16	16
		B	256	256	4	16	2	8	8
26	Ea 6	A	512	16	-	-	-	-	-
		B	512	32	4	64	2	4	64
33	Ea 531	A	512	64	4	2	1	16	8
		B	512	4	1	2	2	8	8
34	Ea 531	A	128	4	32	32	2	32	4
		B	64	16	16	4	1	32	4

- titr nezjišťován - titr not determined

A = před izolací gamaglobulinu - before gammaglobulin isolation

B = po izolaci gamaglobulinu - after gammaglobulin isolation

<sup>1</sup>antisérum; <sup>2</sup>antigen; <sup>3</sup>As titre at reaction with homologous Ag; <sup>4</sup>antisérum titre at reaction with heterogeneous antigens

Naproti tomu ředění antisér jako způsob zamezení křížových reakcí antisér bylo velice rychlé a osvědčilo se nám i v praxi. K a b a t (1958) a K a b a t a M a y e r (1965) uvádějí, že ředění antiséra je rozšířená metoda pro zvýšení specifičnosti antiséra. Výhodou je její jednoduchost. Správnější je však metoda stanovení optimálního poměru antigenu a antiséra. Je však třeba dávat pozor na křížové reakce.

Při izolaci gamaglobulinů jako dalšího z prostředků pro zvýšení specifičnosti antiséra jsme zjistili, že titer antiséra po izolaci IgG se při reakci s homologním antigenem v jednom případě ze čtyř snížil, v ostatních třech případech zůstal na stejné úrovni. V 50,0 % případů se po izolaci IgG specifičnost antisér zvýšila a v 16,6 % případů se specifičnost antisér nezměnila (tab.V).

Izolaci gamaglobulinů za účelem zvýšení specifičnosti antiséra doporučuji např. V e k e n et al. (1962). Uvádějí, že je vhodné používat k sérologickým reakcím globulinové frakce, aby bylo možné se vyhnout nespecifickým reakcím, které se objevují při použití kompletního antiséra.

#### L i t e r a t u r a

- BLANKOV, B. I. - KLEBANOV, D. L.: Primenenije liofilizacii v mikrobiologii. Moskva, 1961.
- BOJARSKIJ, B. G.: O metodach liofilizacii fitopatogennych virusov i antiviruznyh diagnostičeskich syvorotok. Dokl. Timirjaz. sel.- choz. Akad., 99, 1964, s. 441-446.
- CALZOLARI, A. - PEDDES, P. - MAZZUCCHI, U. - MORI, P. - GARZENA, C.: Occurrence of *Erwinia amylovora* in buds of asymptomatic apple plants in commerce. Phytopath. Z., 103, 1982, s. 156-162.
- DE BOER, S. H. - COPEMAN, R. J. - VRUGGINK, H.: Serogroups of *Erwinia carotovora* potato strains determined with diffusible somatic antigens. Phytopathology, 69, 1979, s. 316-319.
- DICKEY, R. S. - CLAFLIN, L. E. - ZUMOFF, C. H.: *Erwinia chrysanthemi*: Serological comparison of strains from Zea mays and other hosts. Phytopathology, 77, 1987: 426-430.
- HAMANN, U.: Die Verwendung von *Physalis floridana* als Wirtspflanze zur Herstellung von Y - Antiserum. Phytopath. Z., 43, 1962, s. 416-419.
- JERMOLJEV, E. - POZDĚNA, J.: Sérologie rostlinných patogenů. Academia Praha, 1972, 261 s.
- KABAT, E. A.: In: COLE, W.H. (Ed.): Serological and biochemical comparisons of proteins. New Brunswick, N.J., Rutgers Univ. Press 1958, s. 92.
- KABAT, E. A. - MAYER, M. M.: Experimentální imunochemie. Praha, Nakl. ČSAV 1965, 662 s.
- KÁŠ, J. - KRÁLOVÁ, B.: Laboratorní metody v biochemii. Praha, SNTL 1971, 202 s.
- KÚDELA, V.: *Erwinia amylovora*, původce spály růžovitých rostlin v Československu. Ochr. Rostl., 24, 1988, s. 173-182.
- KÚDELA, V.: Spála růžovitých rostlin, MZVŽ ČSR, 1990, 163 s.
- LAROCHE, M. - VERHOYEN, M.: The search for a specific antigen for *Erwinia amylovora*. Phytopathology, 116, 1986, s. 269-277.
- POZDĚNA, J.: The papaya mosaic (*Carica papaya* L.) in Cuba and its serological determination. Proc. 6th Conf. Czechoslov. Pl. Virol. ČSAV Praha, 1967, s. 247-249.
- REGENMORTEL, M. H. V. - ENGELBRECHT, D. J.: Serological detection of sour cherry necrotic ringspot virus without prior concentration. S. Afr. J. labor. clin. Med., 8, 1962, s. 40.

VANTOMME, R. - SWINGS, J. - GOOR, M. - KERSTERS, K. - LEY, J. de: Phytopathological, serological, biochemical and protein electrophoretic characterization of *Erwinia amylovora* strains isolated in Belgium. *Phytopath. Z.*, 103, 1982, s. 349-360.

VEKEN, J. A., van der - SLOGTEREN, D.H.M., van - WANT, J.P.H., van der: Immunological methods. *Modern methods of plant analysis*. Berlin, 1962.

Došlo dne 19.11. 1991

*Mráz I. (Research Institute for Crop Production, Praha 6 - Ruzyně)*

### **Preparation of specific antibodies for detection of *Erwinia amylovora* bacteria**

Isolates of *Erwinia amylovora* obtained from hawthorns and pear-trees from the territory of Bohemia were used for antigen preparation. Rabbits were injected either with live bacteria or with heat-, phenol- or formaldehyde-killed bacteria. A mixture of antigen and adjuvant (Al-span-oil, two-component) was used in some injections. Antigen density of injections was  $10^8$  or  $10^9$  CFU/ml. Different injection techniques and their combinations (intravenous - subcutaneous, intramuscular - subcutaneous) and repeated immunization were used. Each immunization cycle was applied simultaneously to 2-5 animals. Blood collection and antiserum production followed the methods described by J e r m o l j e v and P o z d ě n a (1972). A drop agglutination method was used to determine the titre of *Erwinia amylovora* antiserum. The highest titre was recorded at injection of live antigen. Worse results were obtained in antisera against formaldehyde- and heat-killed antigens. No adjuvant was used for immunization. There was not a direct relationship between the number of injections and the titre value. Neither was there a direct relationship between the total amount of antigen administered during immunization and the titre value. Subcutaneous implantation of antigen or the combination of subcutaneous and intravenous injections were found to be efficient. Intramuscular injections and the combination of intramuscular and subcutaneous injections were less efficient. Delipidization enabled to increase the titre of produced antisera. Delipidization was made three times. The first delipidization gave the best results of titre increase. The highest rate of specificity was obtained in those antisera which contained formaline-killed antigens. Worse results were recorded in those antisera, the antigen of which was implanted in live form, and as phenol- or heat-killed ones. Intramuscular, and/or subcutaneous injection, low number of injections (2-5) with small doses of antigen (0.1-2.0 ml) and administration of a smaller volume of antigen in the course of the whole immunization cycle were efficient to increase specificity. The use of adjuvants at immunization increased antiserum specificity. The specificity of produced antisera was increased by saturation and by gammaglobulin isolation. Some antisera were diluted to prevent cross reactions.

*Erwinia amylovora*; serology; immunization; antigen; antiserum

## ZAHAJUJETE ŘEŠENÍ NOVÉHO VÝZKUMNÉHO ÚKOLU?

**Potom budete zcela jistě potřebovat nejnovější domácí i zahraniční informace o stavu vědy a výzkumu v oblasti, kterou se zabýváte.**

**Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství,  
oddělení informačních systémů Vám nabízí:**

**Rešerše z mezinárodního informačního systému AGRIS. Báze dat AGRIS obsahuje téměř 2 000 000 záznamů z oblasti zemědělství, potravinářství a lesnictví s retrospektivou od roku 1975.**

Retrospektivní rešerše jsou zpracovávány z kompaktních disků. Při formulaci dotazu mohou být kromě tematického zaměření zohledněny i další specifické požadavky uživatele (jazyk dokumentu, autor, země původu ap.). Doba dodání rešerše je jeden týden po obdržení objednávky. V případě zájmu se uživatel může zpracování zúčastnit osobně a upřesňovat v průběhu vyhledávání svůj dotaz. Rešerše jsou dodávány tištěné nebo na disketách.

Průběžné rešerše jsou zpracovávány na základě trvalé objednávky a pečlivě odladěného dotazu. Na požádání uživatelů je možné provádět v zadání potřebné změny. Rešerše jsou dodávány uživatelům jednou měsíčně v tištěné formě.

**Rešerše ze zahraničníchází dat.** Nabízíme zpracování retrospektivních rešerší z více než 500ází dat, uložených v databázových centrech v Evropě i v USA. Databázová centra zpřístupňují dokumentografické i faktografické informace, statistické a ekonomické údaje a informace o zahraničních firmách. Rešerše jsou dodávány tištěné nebo na disketách.

**Veškeré informace Vám poskytneme a Vaše objednávky přijmeme:**

Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství  
oddělení informačních systémů  
120 56 Praha 2, Slezská 7  
(metro A, stanice nám. Míru)

tel.: 25 14 21, 25 74 75, 25 75 41/274, 276, 340  
fax: 25 70 90

## TECHNICKÁ REPA AKO ZDROJ NÁKAZY PLESNE REPY (*PERONOSPORA FARINOSA* FR. f. sp. *BEATAE*) PRE PRIAME VÝSEVY SEMENAČKY CUKROVEJ REPY

Agáta FARGAŠOVÁ, Vít BOJŇANSKÝ<sup>1</sup>

Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava;

<sup>1</sup>Ústav experimentálnej fytopatológie a entomológie SAV, 900 28 Ivanka pri Dunaji

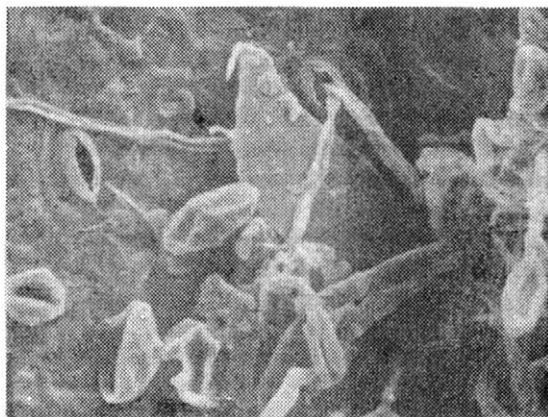
Po zavedení novej technológie pestovania semena cukrovej repy z letných priamych výsevov semena sa na Slovensku objavil silnejší výskyt plesne repy. V práci sú zhodnotené pozorovania vplyvu porastov technickej repy na výskyt patogéna v susediacich a vzdialenejších porastoch semenačiek. Technická repa môže byť v jesennom období zdrojom konídií roznášaných vetrom a zdrojom oospór roznášaných veternými eróziami. Vzájomná vzdialenosť pozemkov semenačiek a technickej repy je podľa získaných výsledkov menej významná než poloha semenačky z pohľadu smeru prevládajúcich vetrov. Porasty semenačiek umiestnené mimo smeru prevládajúceho vetra mali v priemere 4,80 % napadnutých rastlín. Pri porastoch umiestnených intermediárne to bolo 8,05 %. Porasty umiestnené od technickej repy v smere prevládajúceho vetra mali v priemere 13,66 % napadnutých rastlín. V rámci preventívnych opatrení sa odporúča dodržiavať oševné postupy, zohľadňovať smer prevládajúceho vetra a umiestňovať semenačky čím ďalej od porastov technickej repy.

repa semenačka; *Peronospora farinosa*; intenzita výskytu; vzťah technickej repy k semenačkám

Zavedením novej technológie pestovania semena cukrovej repy z priamych výsevov semenačiek (Bojňanský et al., 1983; Bojňanský, 1990) vzniká na Slovenska problém výskytu a škodlivosti plesne repy, ktorý pri tradičnej technológii pestovania semena sa takmer nevyskytol, alebo len ojedinele vo veľmi miernom, ekonomicky nevýznamnom rozsahu.

Huba *Peronospora farinosa* (Fr.) f. sp. *betae* Ryf. nenachádza na porastoch technickej cukrovej repy v klimatických podmienkach juhozápadného Slovenska najvhodnejšie podmienky. Na repe žije v málo výraznej forme, v listoch vytvára sifonálne mycélium. Čez prieduchy vyrastajú konidiofóry s bohatou tvorbou konídií, ktorými sa počas vegetácie rozširuje. Životaschopnosť konídií s časom a v menej priaznivých podmienkach rýchle klesá. Najviac sa ich tvorí pri teplotách 8 až 10 °C a relatívnej vlhkosti 90 až 100 %. Ich klíčivosť má optimum pri 4 až 10 °C a najviac infekcií vzniká pri teplotách 7 až 15 °C a dostatočnej vlhkosti až tvorbe vodného filmu na povrchu rastliny (B y f o r d ,

1968). Takéto podmienky bývajú najmä v neskoršej jeseni a na jar. V odumierajúcich listoch sa tvoria oospóry ako ďalší zdroj nákazy. V tejto forme huba prežíva nevhodné, najmä zimné obdobie. Už slabšími vetrami sa môžu konídie dostať do značnej vzdialenosti. Veternou eróziou sa roznášajú aj guľovité, hrubostenné oospóry. Ich prenos vetrom je možný buď v čistej forme (najmä pri konídiách), alebo sú nesené s pôdou a v pôde (najmä oospóry). Veľký význam zbytkom repy v pôde a v nich vznikajúcim oospóram pri rozširovaní plesne repy pripisuje v Holandsku v a n d e r S p e k (1964) a vo Švédsku B j ö r l i n g a M ö l l e r s t r ö m (1964).



1. Konidiofóry vyrastajúce z prieduchu listu a konídie huby *P. farinosa* f. sp. *betae* (zväčšenie 2000x) - Conidiophores growing out from the leaf stoma and conidia of the fungus *P. farinosa* f. sp. *betae* (magnification 2000x)

V našej predchádzajúcej práci (F a r g a š o v á , B o j ň a n s k ý , 1992) sme zhodnotili vplyv teploty a zrážok na dynamiku a intenzitu výskytu plesne repy v porastoch semenačky cukrovej repy z priamych výsevov. Rozbor jednotlivých faktorov ukázal, že intenzitu výskytov v jednotlivých rokoch výrazne ovplyvňuje hĺbka mrazov v zimnom období, väčšie množstvo zrážok a vyššia vlhkosť ovzdušia v mesiacoch marec až máj, ako aj kompletnosť porastu. Každý z uvedených faktorov sa do určitej miery podieľa na vzniknutých situáciách, ale rozdiely v intenzite výskytov na jednotlivých lokalitách boli pri našich sledovaniach tak veľké, že pri zohľadnení horeuvedených faktorov sme nemohli vysvetliť rozdielnu intenzitu výskytov plesne repy na priestorove veľmi blízkych lokalitách.

## MATERIÁL a METÓDY

Podľa záznamov z vyhodnocovania intenzity výskytov plesne repy v jednotlivých rokoch a porastoch semenačiek cukrovej repy z priamych výsevov [metodika je uvedená v práci F a r g a š o v á a B o j ň a n s k ý (1992)] sme si s agronómom príslušného Semenárskeho štátneho majetku (SŠM) v Trnave, Sládkovičove, Kvetoslavove, Topoľčanoch a Holíči z hospodárskych máp zakreslili vzájomné polohy porastov technickej repy a semenačiek v jesennom období príslušného roku. Súčasne agronóm na náčrtku vyznačil smer prevládajúceho vetra. Získané údaje o jednotlivých lokalitách z vegetačných rokov 1988 až 1990 sme zostavili do tabuľky podľa vzdialenosti semenačiek od technickej repy s vyznačením výskytu plesne v percentách a podľa smeru prevládajúceho vetra. Pri vzdialenosti porastov sme vypočítali priemery výskytov plesne repy v semenačkách vzdialených od porastov technickej repy do 1000, od 1000 do 2000 a nad 2000 m. Pri smere vetra sme vypočítali priemery výskytov plesne repy na semenačkách umiestnených od technickej repy mimo smeru prevládajúceho vetra, v smere vetra a v intermediárnej polohe.

## VÝSLEDKY

Zoznam spracovaných lokalít zo sledovaných rokov v poradí podľa zväčšujúcej sa vzdialenosti porastov technickej cukrovej repy s uvedením smeru prevládajúceho vetra a intenzity výskytu plesne repy na semenačkách je uvedené v tab. I a preukaznosť rozdielov v tab. II.

Zhodnotenie vzdialenosti semenačiek od technickej repy a intenzita výskytov plesne repy ukazuje, že niet výraznejšej korelácie. Nie vždy platí, že čím sú porasty semenačiek bližšie k technickej repe ako potenciálneho zdroja nákazy, tým sú silnejšie výskyty choroby. Napr. porast semenačky na hospodárstve Zlatý Klas bol hneď vedľa technickej repy a predsa bol výskyt plesne veľmi slabý (<1 %). Ako vidieť z tab. I, semenačka nebola svojou polohou k technickej repe v smere prevládajúceho vetra. Tiež by sme mohli povedať, že technická repa bola v dobrom zdravotnom stave s veľmi slabým alebo žiadnym zdrojom nákazy. Na druhej strane na hospodárstve 9. máj pri vzdialenosti semenačky od technickej repy len 200 m, bol výskyt plesne repy 23,7 %. Na hospodárstve Veľké Úľany bol v semenačke 13,0% výskyt plesne. Hospodárstvo malo porasty technickej repy vzdialené 3800, 4000 a 4800 m a semenačka bola mimo smeru prevládajúcich vetrov. Nie je však vylúčené, že niektoré susedné hospodárstvo malo technickú repu bližšie a v smere prevládajúceho vetra, ktorá mohla byť zdrojom nákazy. Zdrojom nákazy môže byť aj veterná erózia z pozemkov, kde bola repa pred dvoma-troma rokmi.

I. Vzdialenosti porastov semenáčiek cukrovej repy z priamych výsiev od porastov technickej repy, smer vetra a napadnutie porastov plesňou repy v rokoch 1988 až 1990 na jednotlivých lokalitách - The distance of the direct sown sugar-beet seed stands from the industrial sugar-beet stands, wind directions and infestation of stands with beet downy mildew in the years 1988 - 1990 at different localities

Lokalita <sup>1</sup>	Vzdialenosť [m]	Smer vetra <sup>3</sup>	Výskyt <sup>4</sup> [%]	Priemer <sup>5</sup>	Lokalita	Vzdialenosť [m]	Smer vetra	Výskyt [%]	Priemer
Zlatý Klas	10	-	<1,00		Blatná	1100	++	13,50	
Prílohy	10	+	8,00		Blatná		++	8,00	
9. máj	200	++	23,75		Prílohy	1200	-	1,00	
Žabinec	400	-	<1,00		Špačince		+	3,75	
9. máj	500	-	9,75		Krušovce	1500	-	10,75	
Špačince		-	11,75		Pusté Úľany		++	2,75	
Prílohy		++	25,00	11,37	9. máj			1,50	8,05
9. máj	750	+	3,50	± 3,3,28	Špačince		++	35,00	± 3,2,43
Zlatý Klas		-	3,50		Prílohy		-	1,00	
Blatná		++	1,75		Čierna Voda		++	15,00	
Zadná Hora	800	++	45,25		Košúty	1800	++	6,75	
Blatná		-	6,25		Čierna Voda		-	1,00	
Lúčny Dvor		++	7,50		Nemčice		++	9,25	
Špačince	1000	-	11,25		Košúty	2000	-	3,50	
Bojná	2200	-	3,75		Krušovce		++	9,25	
Blatná	2300	-	3,75		Špačince	3000	++	13,50	
Špačince	2500	++	20,50		Veľké Úľany	3800	-	13,00	
Blatná		++	6,00	8,52	Babí Dol	4000	+	23,50	8,52
Blatná		-	1,00	± 3,2,43	Kopčiansky Kus		-	5,25	± 3,2,17
Nemčice		-	1,00		Nad Potokom	4200	-	1,75	

- = neprevládajúci - beyond the dominant; + = intermediárny - intermediary; ++ = prevládajúci - in the dominant

<sup>1</sup>locality; <sup>2</sup>distance; <sup>3</sup>wind direction; <sup>4</sup>occurrence of downy mildew; <sup>5</sup>mean

II. Preukaznosť rozdielov *t*-testom pri výskyte plesne repy v závislosti od vzdialenosti pozemkov -  
- Significance of *t*-test differences at beet downy mildew in dependence on stand distances

Priemerná vzdialenosť <sup>1</sup> [m]	1100 - 2000	2200 - 4200
10 - 1100	-	-
1100 - 2000	-	-

- = nepreukazné - nonsignificant

<sup>1</sup>mean distance

III. Vplyv smeru prevládajúcich vetrov na výskyt plesne repy v porastoch semenačiek repy z priamych výsevov v rokoch 1988 až 1990 - Influence of the dominant wind direction of the occurrence of sugar-beet downy mildew in the direct sown sugar beet seed stands in the years 1988 - 1990

Umestnenie porastov <sup>1</sup>	Počet lokalít <sup>6</sup>	Vzdialenosť <sup>7</sup> [m]	Priemerný výskyt plesne repy <sup>8</sup> [%]
Mimo smeru prevládajúceho vetra <sup>2</sup>	19	10 - 4200	4,80 ± 3.1,23
Intermediárne <sup>3</sup>	5	10 - 4000	8,05 ± 3.4,02
V smere prevládajúceho vetra <sup>4</sup>	16	200 - 3000	13,66 ± 3.2,81

<sup>1</sup>location of stands; <sup>2</sup>beyond the dominant wind direction; <sup>3</sup>intermediary; <sup>4</sup>in the dominant wind direction; <sup>5</sup>number of localities; <sup>6</sup>distance; <sup>7</sup>mean occurrence of downy mildew

Oospóry si môžu zachovať životaschopnosť po niekoľko rokov. Prjamo ideálne sa prejavuje vplyv technickej repy na semenačku na hospodárstve Spačince, kde so vzrastajúcou vzdialenosťou v smere prevládajúceho vetra klesla sila výskytu choroby. Pri vzdialenosti 1500 m to bolo 35,0 %, pri 2500 m 20,5 % a pri vzdialenosti 3000 m to bolo už len 13,5 %.

IV. Preukaznosť rozdielov *t*-testom pri výskyte plesne repy v závislosti od prevládajúceho smeru vetra - Significance of *t*-test differences at beet downy mildew in dependence on dominant wind direction

Smer vetra <sup>1</sup>	Intermediárny <sup>2</sup>	Neprevládajúci <sup>3</sup>
Prevládajúci <sup>4</sup>	-	+
Intermediárny	-	-

- = nepreukazné - non significant; + = preukazné - significant

<sup>1</sup>wind direction; <sup>2</sup>intermediary; <sup>3</sup>beyond the dominant; <sup>4</sup>in the dominant

Zhodnotenie vplyvu prevládajúceho smeru vetra od porastov technickej repy na výskyt plesne repy v semenačkách je uvedené v tab. III, v ktorej sú z tohto hľadiska spracované výskyty choroby z lokalít uvedených v tab. I. Preukaznosť rozdielov je uvedená v tab. IV. Ukazuje sa, že porasty semenačiek umiestnené od technických riep v smere prevládajúceho vetra sú viacej napadané plesňou ako porasty mimo smeru prevládajúceho vetra. Smer prevládajúceho vetra sa uplatňuje aj pri väčších vzdialenostiach ako 3000 m, čo je pochopiteľné, ak si uvedomíme, že hmotnosť konídií a oospór patogéna je nepatrná a preto môžu byť už slabým vetrom unášané aj na väčšie až veľké vzdialenosti. Dôležité je, aby sa krátko po transporte vytvorili vhodné podmienky pre ich vyklíčenie a infekciu, t. j. vodný film na liste, alebo alespoň vysoká vzdušná vlhkosť po dobu 6 až 10 hodín a teplota pod 20°C (B y f o r d , 1968).

#### DISKUSIA

O epidemiológii choroby rozhoduje zvyčajne veľa faktorov a nie je ľahké vystihnúť tie najvýznamnejšie z nich, ktoré rozhodujú o infekcii, vývoji patogéna a jeho hospodárskej škodlivosti. Nami získané a zhodnotené údaje a ich konfrontácia s doterajšími literárnymi údajmi ukazujú, že vedľa intenzity mrazov v zimnom období (F a r g a š o v á , B o j ň a n s k ý , 1992), vlhkosti a teplôt, ako aj svetelnej intenzity v jarnom období (R u s s e l l , B a r f o r d , 1971) je významným faktorom aj prevládajúci smer vetra vanúci v jesennom a jarnom období od porastov technickej repy k semenačkám a aj vzdialenosť porastov semenačiek od porastov technickej repy, ktorá môže byť viac alebo menej významným zdrojom nákazy. Zo získaných číselných podkladov možno predpokladať, že vzdialenosť zdroja nákazy (technickej repy) zohráva menšiu úlohu než prevládajúci smer vetra. Transport a primárne infekcie zoospór môžu zohrávať významnejšiu úlohu preto, že po transporte môžu dlhšiu dobu vyčkať na vhodné podmienky (dážď, rosa a k tomu vhodné teploty) na liste, kým životaschopné konídie potrebujú vhodné podmienky ihneď, alebo krátko po transporte. O rozširovaní nákazy *P. farinosa* vetrom, hmyzom, vtáctvom, zverinou, náradím, dopravnými prostriedkami, čím sa môže preniesť väčšie množstvo nákazy na väčšie vzdialenosti, uvažujú aj B e n c a L a p á r (1960).

Keďže oospóry vydržia v pôde aj viacej rokov, môže pestovateľ znížiť výskyt plesne repy v semenačkách z priamych výsevov dodržiavaním osevných postupov (aspoň štvorročný, lepšie päťročný odstup semenačky od technickej repy), vyhýbať sa umiestneniu semenačky do blízkosti porastov technickej repy, a to najmä vtedy, ak by mala byť semenačka umiestnená v smere prevládajúceho vetra.

## Literatúra

- BENC, S. - LAPÁR, M.: Repná pleseň (*Peronospora*). In: Cukrová repa. Bratislava, Slov. Vyd. pôdohosp. Lit. 1960, s. 377-382
- BOJŇANSKÝ, V.: Biologizácia boja proti vírusovým chorobám cukrovej repy. Veda a Prax (Úst. exp. Fytopat. Entomol. SAV, Ivanka pri Dunaji), 1, 1990, č. 1, 27 s.
- BOJŇANSKÝ, V. - ŠUBÍKOVÁ, V. - CHRÝBIK, R.: Racionalizácia výroby semena cukrovej repy priamymi výsevmi. Rostl. Výr., 29, 1983, s. 1271-1279.
- BJÖRLING, K. - MÖLLERSTRÖM, G.: Factors affecting the incidence of downy mildew in beets in Sweden in 1946-63. Socker, 19, 1946, s. 17-33.
- BYFORD, W. J.: Laboratory experiments on sugar-beet downy mildew (*Peronospora farinosa*). Ann. appl. Biol., 61, 1968, s. 47-55.
- FARGAŠOVÁ, A. - BOJŇANSKÝ, V.: Výskyt plesne repy (*Peronospora farinosa* f. sp. *betae*) na Slovensku. Ochr. Rostl., 28, 1992, č. 3, s. 215-225.
- RUSSELL, G. E. - BARFORD, I. A.: Some factors affecting the concentrations of sugar in leaves of inbred sugar-beet lines. Ann. appl. Biol., 68, 1971, s. 299-305.
- SPEK, J. van der: Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek. Wageningen. In: Jaarverslag 1963, 1964.

Došlo dňa 29. 7. 1991

A. Fargašová, V. Bojňanský (Department of Environmental Sciences of the Slovak Technical University, Bratislava; Institute of Experimental Phytopathology and Entomology of the Slovak Academy of Sciences, Ivanka pri Dunaji, Czechoslovakia)

**Industrial sugar-beet crops as a source of sugar-beet downy mildew (*Peronospora farinosa* f. sp. *betae*) for summer direct sown of sugar-beet seed crops**

Introduction of the new sugar beet seed cultivation technology by direct summer sowing of seed caused stronger occurrence of sugar-beet downy mildew in south-west Slovakia. The authors followed up with the previous paper (F a r g a š o v á , B o j Ň a n s k ý, 1992), evaluate the observations relating the influence of the sugar-beet industrial stands in the neighbouring and remote sugar-beet stands on occurrence of pathogen. This work were obtained on 22 yards of five Seed State Farms. Besides intensity of incidences of sugar-beet downy mildew on the individually observed localities also the influence of distance of sugar-beet seed crop from the sugar-beet industrial crops, and the position of sugar-beet seed crop to winds as dominated direction from the sugar-beet industrial crop or crops was evaluated.

The results obtained in three year observations (1988, 1989, 1990) are given in two tables represent the localization of the seed and industrial sugar-beet crops. The

sugar-beet industrial crop can be a source of conidia delivered by winds in autumn season and a source of oospores delivered by wind erosions in spring season. The mutual distance of the sugar-beet seed and industrial stands is less important than the position of sugar-beet seed stands from the view of the wind dominant direction. The conidia and oospores of downy mildew are not a source of infection for new locality of summer direct sown sugar-beet seed crop if they are not transmitted from older host plant of sugar-beet industrial crops.

The sugar-beet seed stands out of the winds dominant direction have had in average 4.80 % of infested plants. The seed stands in intermediary position to the winds dominant direction have had in average 8.05 % of infected plants, and the seed stands localized to industrial stands in winds dominant direction have had in average 13.66 % of infected plants. In the frame of prevention measures it is recommended to keep the crop rotation, to considerate the winds predominated direction and to localize the seed crops as far from the industrial crops as possible.

sugar-beet; *Peronospora farinosa*; occurrence intensity; relationship between sugar-beet industrial and seed crops

## VPLYV MINERÁLNEJ VÝŽIVY NA VÝSKYT PLESNE REPY (*PERONOSPORA FARINOSA* FR. f. sp. *BETAE* BYF.) V PRIAMÝCH VÝSEVOCH SEMENAČIEK CUKROVEJ REPY

Vít BOJŇANSKÝ, Agáta FARGAŠOVÁ<sup>1</sup>, Ján KRÁĽOVIČ

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

<sup>1</sup>Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

Vyhodnotil sa vplyv hnojenia cukrovej repy dusíkom, fosforom a draslíkom na výskyt plesne repy v políčkovom pokuse a tiež pôdnych zásob draslíka, fosforu a horčička na 50 lokalitách juhozápadného Slovenska v rokoch 1987 až 1990. Získané výsledky z políčkového pokusu ukázali, že individuálne hnojenie cukrovej repy draslíkom, dusíkom a fosforom pozitívne, ale štatisticky nepreukazne podmienilo silnejší výskyt plesne repy. Hnojenie draslík + dusík zvýšilo výskyt štatisticky preukazne a hnojenie draslík + dusík + fosfor štatisticky vysokopreukazne. Výskyt plesne repy na cukrovej repe, ktorá sa pestovala pri pôdnych zásobách 103 až 263 mg K na 1 kg, resp. 18 až 71 mg P na 1 kg v porovnaní pri pôdnych zásobách 265 až 527 mg K na 1 kg, resp. 72 až 171 mg P na 1 kg bol štatisticky preukazne, resp. vysokopreukazne zvýšený. Vyššie pôdne zásoby horčička preukazne neovplyvnili intenzitu výskytu choroby.

*Pernospora farinosa*; semenačka cukrovej repy; vplyv minerálnej výživy

Nová technológia pestovania kultúrnej rastliny spravidla prináša niektoré problémy v agrotechnike, v ochrane i pri zbere. Potvrdzujú to výsledky pri pestovaní semena cukrovej repy z priamych výsevov (Bojňanský, 1990), pri ktorých rastliny po vzídení z augustového výsevu ostávajú celú zimu na poli. Menia sa podmienky pestovania, a to priaznivo pre výskyt plesne repy. Chladnejšie a vlhkejšie počasie jesene a jari je vhodnejšie pre tvorbu konídií, a tým pre infekčný proces huby, než teplejšie a suchšie počasie neskorej jari, leta a začiatku jesene pri pestovaní sadzačiek a technickej repy.

Fargašová a Bojňanský (1992 a, b) zhodnotili vplyv teploty, zrážok, zdroja nákazy a smeru vetra na výskyt plesne repy. Poukázali na dôležitosť týchto faktorov v epidemiológii choroby.

V literatúre sa venuje pomerne málo prác vplyvu minerálnej výživy na výskyt patogénov v porovnaní s ostatnými faktormi. Všeobecne sa konštatuje, že prehnojenie rastlín dusíkom znižuje odolnosť rastlín voči škodlivým činiteľom. Túto skutočnosť pri výskute plesne repy potvrdzujú Byford (1967) a Byford, Hull (1967). Kráľovič (1988) a Kráľovič, Šubíková (1989), venujú pozornosť výžive rastlín draslíkom vo vzťahu k patogénom.

V práci uvádzame výsledky o vplyve hnojenia cukrovej repy dusíkom, draslíkom fosforom a vplyve pôdnej zásoby draslíka, fosforu, horčíka a pH pôdy na výsky plesne repy v porastoch semenačiek z priamych výsevov semena.

### MATERIAL a METÓDY

Malopolíčkový hnojársky pokus sme založili v jesennom období 1988 na piesočnato-hlinitej pôde s pH/KCl 7,5, s pôdnou zásobou 19 mg fosforu, 113 mg draslíka a 150 mg horčíka na 1 kg. Pred výsevom semena cukrovej repy cv. Intera (19. 8. 1988) sme na pokusnú plochu zapravili do pôdy 500 g vysušeného humusu, získaného z listov silne napadnutých plesňou repy, pozbieraných na jar 1988 za predpokladu, že to môže zvýšiť zamorenosť pozemku patogénom. Pokus mal šesť variantov hnojenia s troma opakovaniami (tab. I). Políčko o rozmeroch 200 x 500 cm malo osem riadkov repy pri medziriadkovej vzdialenosti 25 cm. Medzi políčkami bola vzdialenosť 100 cm. Repu sme vyjednotili v októbri na vzdialenosť 4 až 8 cm. V jesennom a jarnom období sme hodnotili dynamiku výskytu plesne na jednotlivých variantoch. Koncom jesene (15. 11.) a na jar (3. 4. 1989) sme zaznačili počet rastlín na každom opakovaní variantov hnojenia.

Výskyty plesne repy sme vyhodnotili tiež na poľných porastoch semenačiek cukrovej repy z priamych výsevov Semenárskeho štátneho majetku (SŠM) Trnava, Sládkovičovo, Kvetoslavov, Topoľčany a Holič v rokoch 1987 až 1990. Agrochemické laboratória robia SŠM každé tri roky rozbory živín v ich pôdach. Semenačky sa pestovali pri pôdnych zásobách živín (P, K, Mg), ktoré uvádzame v tab. III. Celkove sa vyhodnocovala pôdna zásoba živín a intenzita výskytu plesne repy na 50 pozemkoch. Metodika vyhodnocovania plesne repy je uvedená v práci autorov F a r g a š o v á a B o j ň a n s k ý (1992a). Vyhodnotili sme vzťahy medzi pôdnymi zásobami živín (P, K, Mg) a výskytom intenzity plesne repy.

### VÝSLEDKY

V tab. I uvádzame údaje o počte napadnutých riep plesňou repy v jednotlivých variantoch hnojenia zaznačených v políčkovom pokuse. Pri porovnávaní priemerného napadnutia rastlín cukrovej repy plesňou medzi kontrolou a variantami hnojenia sa ukázalo, že sa pri jednozložkovom hnojení najvyššie napadnutie zaznačilo na variante hnojenia draslíkom. Bolo však štatisticky nepreukazné voči kontrole. Z preukazností napadnutia rozdielov medzi variantami hnojenia (tab. II) vyplýva, že sa vysokopreukazné rozdiely v napadnutí zaznačili medzi variantami hnojenia E (N + P + K) a kontrolou, dusíkom, fosforom, dusíkom a draslíkom a preukazné rozdiely medzi kontrolou

a hnojením dusíkom a draslíkom, ako aj medzi variantom hnojenia E (N + P + K) a C (draslík).

I. Vplyv hnojenia semenačky cukrovej repy z priameho výsevu na výskyt plesne repy - Influence of manuring of direct sown sugar-beet seed crops on the incidence of beet downy mildew

Variant	Počet napadnutých rastlín <sup>1</sup>			$\bar{x} \pm 3.S\bar{x}$
	opakovanie <sup>2</sup>			
	I	II	III	
A (N)	5	7	9	7,0± 1,16
B (P)	9	7	4	6,7± 3.1,45
C (K)	4	15	13	10,7± 3.3,39
D (N+K)	18	14	9	13,7± 3.2,61
E (N+K+P)	26	31	21	26,0± 3.2,89
F (kontrola <sup>3</sup> )	6	4	5	5,0± 3.0,58

A = liadok vápenatý - nitrate of lime (16 %, 6 q.ha<sup>-1</sup>, 2/3 in autumn, 1/3 in spring)

B = superfosfát - superphosphate (22 %, 12 q.ha<sup>-1</sup>)

C = draselná soľ - potassium salt (40 %, 6 q.ha<sup>-1</sup>)

<sup>1</sup>number of infected plants; <sup>2</sup>repetition; <sup>3</sup>check

II. Hodnoty preukaznosti medzi variantami hnojenia - Significance of values between manuring variants

Varianty - Variants														
F					E				D			C		B
A	B	C	D	E	A	B	C	D	A	B	C	A	B	A
-	-	-	+	++	++	++	+	++	-	-	-	-	-	-

V tab. III uvádzame priemerné hodnoty o pôdnych zásobách živín (N, P, K), pH a výskytom plesne repy, vypočítané z 10 lokalít vybraných podľa zásoby jednotlivých živín. Stredné chyby sa vyznačujú pomerne vysokými hodnotami, ktoré podmieňuje interakcia pôdnymi zásobami živín a ich príjmom cukrovou repou. Aj napriek uvedenej skutočnosti možno konštatovať, že pri stúpajúcich pôdnych zásobách horčička poklesol výskyt intenzity plesne repy, ale s hodnotou štatisticky nepreukazného korelačného koeficientu (-0,23). Preukaznosť v podstatnej miere ovplyvnil pomerne vysoký výskyt napadnutia (15,07) pri priemernej pôdnej zásobe 211,1 mg Mg na 1 kg. Hlbšia analýza uvedeného výsledku poukázala, že ho pravdepodobne podmienil značne vysoký obsah fosforu (92,2 mg/kg) a draslíka (259,4 mg/kg), ktoré pri stúpajúcom obsahu veľmi pozitívne ovplyvňujú výskyt plesne repy. V rozsahu od 39,4 do 102,5 mg fosforu na 1 kg sme vypočítali medzi jeho stúpajúcim obsahom a výskytom plesne repy štatisticky pozitívne vysokopreukazný korelačný koeficient (+0,94)

a medzi stúpajúcim obsahom draslíka do 297,6 mg/kg a plesňou repy až + 0,96. Pri vyššej pôdnej zásobe oboch prvkov minerálnej výživy čiastočne klesol výskyt choroby, čo pravdepodobne súvisí s nedostatočnou dusíkatou výživou cukrovej repy.

III. Porovnanie priemerného výskytu plesne repy podľa stúpajúceho priemerného obsahu draslíka, fosforu, horčíka a pH pôdy - Comparison of the incidence of beet downy mildew according to the higher content of potassium, phosphorus, magnesium and pH

Obsah draslíka <sup>1</sup> [mg.kg <sup>-1</sup> ]	Výskyt plesne <sup>2</sup> [%]	Obsah fosforu <sup>3</sup> [mg.kg <sup>-1</sup> ]	Výskyt plesne <sup>2</sup> [%]	Obsah horčíka <sup>4</sup> [mg.kg <sup>-1</sup> ]	Výskyt plesne [%]	pH	Výskyt plesne [%]
156,1 ± 3.7,30	4,05 ± 3.1,50	39,4 ± 3.3,34	2,85 ± 3.0,87	127,6 ± 3.4,95	10,95 ± 3.1,33	6,48 ± 3.0,13	12,20 ± 3.4,09
218,5 ± 3.5,38	7,67 ± 3.1,88	59,2 ± 3.1,77	6,12 ± 3.1,55	150,5 ± 3.1,72	6,85 ± 3.1,97	7,15 ± 3.0,02	11,90 ± 3.3,64
264,2 ± 3.4,00	9,42 ± 3.3,59	74,4 ± 3.0,79	12,37 ± 3.3,76	117,0 ± 3.3,36	8,95 ± 3.2,67	7,29 ± 3.0,01	8,47 ± 3.3,23
297,6 ± 3.2,88	14,30 ± 3.3,32	102,5 ± 3.2,17	13,32 ± 3.3,44	211,1 ± 3.3,77	15,07 ± 3.4,29	7,49 ± 3.0,03	9,30 ± 3.3,23
397,9 ± 3.22,05	11,97 ± 3.2,73	133,2 ± 3.6,09	12,75 ± 3.4,17	274,1 ± 3.6,52	5,60 ± 3.1,42	7,66 ± 3.0,02	5,55 ± 3.1,25

<sup>1</sup>potassium content; <sup>2</sup>incidence of downy mildew; <sup>3</sup>phosphorus content; <sup>4</sup>magnesium content

V rozsahu hodnôt pH od 6,48 do 7,6 sa štatisticky vysoko preukazne znížil výskyt plesne repy, charakterizovaný negatívnym korelačným koeficientom (-0,81). Možno preto predpokladať, že pH pôdy, ktoré je v úzkom vzťahu k obsahu vápnika v pôde, je významným faktorom obplývajúucim výskyt choroby.

#### DISKUSIA

Na podklade získaných výsledkov možno predpokladať, že minerálna výživa podmieňuje v značnej miere odolnosť potenciál cukrovej repy proti plesni. Vytvárajú sa však medzi prvkami minerálnej výživy veľmi zložité vzťahy, o čom svedčia výsledky v tab. I. Pri individuálnom hodnotení účinku dusíka, fosforu a draslíka na intenzitu výskytu plesne repy sa neprejavili preukazné rozdiely medzi nimi, pretože ich samostatné hnojenie podmienilo iba čiastočne zvýšené napadnutie cukrovej repy chorobou. Ich interakcie podmienili výskyt

plesne štatisticky preukazne až vysokopreukazne. Túto skutočnosť potvrdili aj početné vyhodnotenia intenzity výskytu plesne repy na rôznych lokalityách poľných porastov s rozdielným stavom minerálnej výživy (tab. III). Výsledky poukazujú na veľký význam minerálnej výživy pri výskyte uvedenej choroby a na pozitívny vplyv draslíka a fosforu pri jej šírení a na negatívny vplyv horčíka a pH, ktoré v značnej miere závisí od pôdnej zásoby vápnika. Narušenie odolnosti rastlín voči patogénom uvádzajú Kráľovič (1984, 1988), Kráľovič, Šubíková (1989), Kraus (1971), Byford (1967) a Byford, Hull (1967). Kráľovič (1988) a Kraus (1971) zistili, že zvyšovanie obsahu draslíka v rastlinách inhibuje príjem okrem iných iónov tiež katiónov vápnika a horčíka, ktoré podmieňujú pevnosť bunkových blán, a tým odolnosť proti škodlivým činiteľom. Túto skutočnosť priamo potvrdzujú tiež dosiahnuté výsledky o pozitívnom vplyve stúpajúcej pôdnej zásoby draslíka a klesajúcej pôdnej zásoby horčíka a pH na výskyt plesne repy (tab. III). Možno právom predpokladať, že sa pri klesajúcej hodnote pH znižuje obsah vápnika v rastlinách, čo je v súlade s výsledkami, ktoré uverejnil Kraus (1971), ktorý pozoroval pri stúpajúcom obsahu draslíka klesajúci obsah vápnika v šaláte a jeho zvyšujúce napadnutie hubou *Botrytis cinerea* Pers.

Fargašová a Bojnanský (1992a, b) uvádzajú, že intenzita výskytu plesne repy je dôsledkom komplexu faktorov. Medzi nimi má dôležitú úlohu minerálna výživa. Pravdepodobne ide o všeobecnejšie platnú závislosť medzi stavom minerálnej výživy kultúrnej rastliny ako hostiteľa patogénov a ich patogenózu. Tejto problematike sa doteraz vo výskume venuje neadekvátna pozornosť. Nezodpovedá hospodárskemu významu, ktorý predstavuje harmonická výživa pri realizácii odolnostného potenciálu rastlín v úzkej väzbe na nenarušené životné prostredie.

## ZÁVER

Získali sa preukazné výsledky o zvyšovaní intenzity napadnutia cukrovej repy plesňou repy v poľníckovom pokuse a na rôznych poľných lokalityách v závislosti od stúpajúcich zásob draslíka a fosforu v pôde a klesajúcej zásoby horčíka a pH. Neharmonická minerálna výživa sa javí ako veľmi významným faktorom šírenia choroby na cukrovej repe. Optimalizácia pôdnych zásob draslíka a fosforu vo väzbe na neutrálne až slabo zásadité pH vytvárajú ekologické a ekonomické podmienky pre racionalizáciu ochrany cukrovej repy proti plesni repy.

## Literatúra

- BOJŇANSKÝ, V.: Biologizácia boja proti vírusovým chorobám cukrovej repy. Veda a Prax (Úst. exp. Fytopatol. a Ent. SAV, Ivanka pri Dunaji), 1, 1990, č. 1, 27 s.
- BYFORD, W. J.: The effect of some cultivation factors on the incidence of downy mildew in sugar-beet root crops. Plant Path., 16, 1967, s. 160 - 161.
- BYFORD, W. J. - HULL, R.: Some observation on the economic importance of sugar-beet downy mildew in England. Ann. appl. Biol., 60, 1967, s. 281 - 296.
- FARGAŠOVÁ, A. - BOJŇANSKÝ, V.: Výskyt plesne repy (*Peronospora farinosa* f. sp. *betae*) na Slovensku, Ochr. Rostl., 28, 1992a, č. 3, s. 215-225.
- FARGAŠOVÁ, A. - BOJŇANSKÝ, V.: Technická repa ako zdroj nákazy plesne repy (*Peronospora farinosa* f. sp. *betae*) pre priame výsevy semenáčky cukrovej repy. Ochr. Rostl., 28, 1992b, č. 4, s. 283-290.
- KRÁLOVIČ, J.: Úloha minerálneho hnojenia pri úrodovnom procese rastlín a životné prostredie. Věst. ČSAZ, 31, 1984, s. 586 - 588.
- KRÁLOVIČ, J.: Influence of potassium on the resistance of plants to pathogens, on the technological quality and health of products. Works Inst. exp. Phytopath. and Ent. Slov. Acad. Sci. (Ivanka pri Dunaji), 3, 1988, č.2, s. 495 - 507.
- KRÁLOVIČ, J. - ŠUBÍKOVÁ, V.: Infekcia fazule vírusom nekrózy tabaku a cukrovej repy vírusom žltáčky repovej v závislosti od výživy draslíkom. Poľnohospodárstvo, 35, 1989, s. 402 - 408.
- KRAUS, A.: Einfluss der Ernährung des Salats mit Massennährstoffen auf den Befall mit *Botrytis cinerea* Pers. Z. Pfl.-Nachr. Bodenkd., 128, 1971, s. 12 - 23.

Došlo dňa 1.8. 1991

V. Bojňanský, A. Fargašová, J. Kráľovič (Institute of Experimental Phytopathology and Entomology of the Slovak Academy of Sciences, Ivanka pri Dunaji; Department of Environmental Sciences of the Slovak Technical University, Bratislava, Czechoslovakia)

### The influence of mineral nutrition on the incidence of beet downy mildew (*Peronospora farinosa* f. sp. *betae*) in the direct sown sugar-beet seed crops

The authors in relation with the previous works F a r g a š o v á , B o j Ň a n s k ý (1992a,b) complete analysis of the ecological factors about the influence of potassium, phosphorus, magnesium, nitrogen and pH value. Their conclusions are based partly on the field manuring experiment with potassium salt, nitrate of lime and superphosphate performed in the years 1988 - 1989, and partly on the utilization of soil analyses carried out on the Seed State Farms cultivated sugar-beet seed by direct sown method in the years 1987 to 1990. In the first case the results demonstrate that the abundant nonrishment of seed stands are more infested with beet downy mildew than the needlyer feeted stands. Higher incidence was observed by mutual interaction of single mineral nutrients. The results are given in the Tables I and II. In the latter case, the results were obtained from

50 localities of sugar-beet seed stands. The results of downy mildew incidence and the results of soil analyses the content of potassium, phosphorus, magnesium and pH of soil are given in the Table III. This table shows that with higher content of potassium and phosphorus the correlation coefficients are positively significant (+0,96 and +0,94). The correlation coefficient by magnesium is not significant. With higher pH value the correlation coefficient is negatively significant (-0,81). From this and preceding works of authors follows, that beet downy mildew in the direct sown seed stands is the result of several ecological factors, from which the nutrishment of stand is one of them. The discussion take mentions that the higt content of potassium in interaction with phosphorus and nitrogen depreciate the intake of calcium and magnesium, their deposition on the cell membranes by which increase their permeability for pathogen, and so resistance potential of host plant is diminishing.

*Peronospora farinosa*; beet seed crops; influence of the nutrishment

## ŽIVOTNÍ JUBILEA

### K 60. narozeninám profesora Josefa Zváry, CSc.

31. března 1992 oslavil narozeniny děkan zemědělské fakulty Jihočeské university prof. ing. Josef Zváry, CSc. Narodil se v Býkovicích na Benešovsku, své mládí prožil ve venkovském prostředí a maturoval v roce 1951 na reálném gymnáziu v Benešově u Prahy. V roce 1955 po ukončení studia fyto technického oboru ve specializaci ochrana rostlin na agronomické fakultě Vysoké školy zemědělské v Praze, nastoupil do Šlechtitelského a semenářského podniku v Táboře, na Šlechtitelskou stanici Slapy u Tábora. Zde pracoval v letech 1955 až 1960 jako šlechtitelský asistent se zaměřením na zemědělskou fytopatologii, včetně rezistentního šlechtění vůči patogenům řepky ozimé, jetelovin a žita ozimého.

V roce 1960 se stal odborným asistentem katedry biologie na nově založené provozně ekonomické fakultě v Českých Budějovicích VŠZ v Praze, kde byl také pověřen přípravou, materiálním vybavením a personálním obsazením připravované katedry rostlinné výroby a ochrany rostlin. V roce 1964 byla samostatná katedra zřízena a ing. Zváry byl pověřen jejím vedením. Kandidátskou disertační práci na téma „Studium možností ochrany jetele lučního před rakovinou (*Sclerotinia trifoliorum* Erikss.)“ obhájil v témže roce. V roce 1969 se habilitoval na agronomické fakultě VŠZ v Praze, kde přednesl habilitační přednášku na téma: „Příspěvek k poznání houbových chorob jetele červeného (lučního) - *Trifolium pratense* L. v Jižních Čechách“. Krátce na to byl jmenován a ustanoven docentem. O rok později byl však zbaven vedení katedry rostlinné výroby a ochrany rostlin a rovněž mu bylo bráněno v členství v komisi ochrany rostlin i při výchově aspirantů. Přes tato různá omezení se kolega Zváry se zaměřil na organizování postgraduálního studia v oboru „Integrovaná ochrana rostlin“ a „Ochrana zemědělských kultur“, a od roku 1974 proběhlo sedm kursů, u nichž byl gestorem.

Účastníci těchto kursů se podílejí na realizaci usměrněné a integrované ochrany v ČR, a to na úrovni velkých zemědělských podniků, organizací služeb, státní správy i fyto-karantenní inspekce. Profesor Z v á r a je často zván na přednášky pro odbornou veřejnost hlavně z oblastí ochrany ovocných dřevin, zeleniny jak polní, tak i pěstované ve sklenících a v jihozápadním regionu Čech je vyhledávaným odborníkem na diagnostiku chorob plodin pro potřeby rostlinolékařství.

Profesor Z v á r a patří k našim významným a uznávaným pracovníkům ve vědním oboru Ochrana rostlin, a to nejen na vědeckém úseku, ale i jako vynikající pedagog, vždy s ryzími přístupy jak v odborné sféře, tak i z hlediska morálního. V denním studiu přednáší celý rozsah předmětu „Ochrana rostlin - zemědělská fytopatologie“ a ve specializovaném studiu Integrovaná ochrana rostlin předměty „Obecná fytopatologie“ a „Choroby polních a zahradních plodin“. Od roku 1978 pracuje jako člen komise pro obhajoby kandidátských disertačních prací ve vědním oboru 41-03-9 zemědělská a lesnická fytopatologie a ochrana rostlin. Je náročným oponentem řady kandidátských disertačních prací a habilitačních docentských spisů a v posledních dvou letech, po jmenování vysokoškolským profesorem pro obor ochrana rostlin, také doktorských disertačních prací. V současné době je také členem komise pro obhajoby doktorských disertačních prací ve vědním oboru 41-03-9 zemědělská a lesnická fytopatologie a ochrana rostlin.

Po roce 1990 se opět dostává do čela katedry rostlinné výroby a ochrany rostlin. Krátce na to probíhalo profesorské řízení a v témže roce byl jmenován vysokoškolským profesorem pro obor ochrana rostlin agronomické fakulty v Českých Budějovicích VŠZ v Praze. Po volbách se dostává do funkce děkana agronomické fakulty a po ustanovení Jihočeské University je dále v této funkci senátem potvrzen.

Vědecká a publikační činnost jmenovaného zaujímá poměrně široký okruh zájmů, zasahujících do různých oblastí zemědělské fytopatologie a ochrany rostlin. Publikoval více než dvě desítky původních vědeckých prací, přednesl více než tři desítky referátů na vědeckých kongresech, konferencích a symposiích s publikovanými závěry ve sbornících. Kromě toho přednesl řadu přednášek „guest lecture“ z oblas svého výzkumu a pedagogické činnosti v Bělehradě, Plovdivu, Krakově, Moskvě, Aas (Norsku), v Helsinkách a Jokoinen ve Finsku, kde obdržel i bronzovou medaili rektora Agricultural University of Helsinki za úspěšný rozvoj fytopatologie. Jako vedoucí výzkumného kolektivu předložil desítku závěrečných výzkumných prací základního výzkumu a vědeckotechnického rozvoje.

Publikační a veřejně osvětová i odborná činnost byla zaměřena na učebnice: *Ochrana rostlin a Zemědělská fytopatologie*, (člen autorského kolektivu), dále na řadu skript a na odborné články v plodinových časopisech, v odborných zemědělských časopisech a v osvětových publikacích Vědecko-technické společnosti.

Prof. Z v á r a se výrazně podílel na vybudování nového pracoviště pro obor ochrany rostlin, které již vychovalo mnoho desítek nových odborníků pro ochranu rostlin a v současné době také postgraduálního doktorandského studia pro obor ochrany rostlin.

Svého jubilea se prof. Z v á r a dožívá v dobrém zdraví a v plném pracovním nasazení. Přejme mu do dalších let pevné zdraví, životní pohodu a ještě mnoho pracovních úspěchů.

Prof. ing. Vladimír T á b o r s k ý, CSc.

**CHEMICKÉ SLOŽENÍ KOKOTICE POVÁZKY - *CUSCUTA*  
*EPITHYMUM* subsp. *TRIFOLII* (BABINGT. et GIBSON) BERGER  
 A STUDIE VZTAHŮ MEZI HOSTITELEM  
*MEDICAGO SATIVA* L. A PARAZITEM**

*Miloslav FROLÍŠEK, František NOVOTNÝ*

*Výzkumný ústav pícninářský, 664 41 Troubsko u Brna*

Ve vzorcích tolíce seté (vojtěšce) nenapadených a napadených kokoticí povázkou byl v hostiteli a parazitu zjišťován obsah N-látek, bílkovin a vázaných a volných aminokyselin (AK). Květy kokotice měly vyšší obsah vázaných AK než lodyžky. Samotné lodyžky kokotice rostlin kvetoucích a nekvetoucích se nelišily obsahem vázaných aminokyselin. Obsah N-látek a bílkovin byl u kokotice nižší než u vojtěšky. U vázaných AK nebyl u hostitele a parazita zjištěn průkazný rozdíl v obsahu aminokyselin. lysinu, kyseliny glutamové, leucinu, metioninu a tyrosinu. V obsahu volných AK nebylo u většiny AK průkazných rozdílů. Velmi významný byl zvýšený obsah argininu a kyseliny glutamové u kokotice. Tyto dvě AK nepochybně hrají velmi důležitou roli v celkovém metabolismu látek u parazita.

*Medicago sativa* L.; rostlinný parazit; *Cuscuta* sp.: chemické složení; N-látky; bílkoviny; aminokyseliny

Holoparazitické rody *Cuscuta* a *Gramica* z čeledi Cuscutaceae zahrnují řadu druhů nepadajících značný okruh hostitelů. Velký hospodářský význam mají zejména ty druhy, které napadají zemědělské plodiny. Více druhů těchto parazitů napadá tolící setou (běžný název vojtěška setá) - *Medicago sativa* L. a z těch se v ČSFR uplatňují v podstatě *C. epithimum* subsp. *trifolii* (Babingt. et Gibson) Berger in Hegi a v menší míře *G. campestris* (Yuncker) Hadač et Chrtek. Hubení uvedných parazitických karantenních druhů - plevelů je velmi obtížné a přináší jen částečné úspěchy. Při výzkumu hubení kokotice si stále více uvědomujeme naléhavost výzkumu vztahů mezi hostitelem a parazitem v oblasti biochemie, chemického složení, fyziologie, biologie apod. Tyto poznatky by mohly napomoci při uplatnění účinnějších forem boje s parazity tohoto typu. Záměrem našich prací je předložit srovnávací studie obsahu hlavních stavebních látek i některých sekundárních složek hostitele a parazita. Předložená práce je zaměřena na obsahy dusíkatých látek, bílkovin a celkových a volných aminokyselin.

## I. Údaje o analyzovaných vzorcích - Data on analyzed samples

Číslo analýzy <sup>1</sup>	Doba a druh analýzy <sup>2</sup>	Vzorek číslo <sup>3</sup>	Stručná charakteristika materiálu	Brief characteristic
1. - 3.	1976 ΣAK	1.	odlistěné lodyhy vojtěšky	defoliated stems of lucerne
		2.	kokotice s ojedinělými květy	of dodder with rare flowers
		3.	kokotice bohatě kvetoucí	dodder rich in flowers
4. - 8.	1978 ΣAK	4.	lodyžky kokotice z málo kvetoucích rostlin, poměr hmotnosti lodyžek a květů 1 : 0,34	stems of dodder from slight flowering plants, ratio of weight of stems of dodder to flowers 1 : 0.34
		5.	květy ze 4. vzorku	flowers from the 4th sample
		6.	lodyžky kokotice z rostlin středně kvetoucích, poměr lodyžek a květů 1 : 29,13	stems of dodder of dodder from plants medium-flowering, ratio of stems of dodder to flowers 1 : 29.13
		7.	květy z 6. vzorku	flowers from the 6th sample
9. - 13.	1979 N-látky <sup>4</sup> bílkoviny <sup>5</sup> ΣAK	8.	květy z rostlin bohatě kvetoucích, poměr lodyžek a květů 1 : 62,65	flowers from plants rich in flowers, ratio of stems of dodder to flowers 1 : 62.65
		9.	lodyhy vojtěšky nenapadené, ve stadiu začátku květu	stems of dodder of uninfested lucerne at the stage of onset of anthesis
		10.	lodyhy z vojtěšky z okraje ohniska	stems of dodder of lucerne from the edge of spot
		11.	lodyhy vojtěšky z centra ohniska	stems of lucerne from the centre of spot
		12.	kokotice bohatě kvetoucí	dodder with many flowers
14. - 16.	1989 ΣAK	13.	kokotice s ojedinělými kvítky	dodder with rare florets
		14.	lodyžky kokotice fertlní bez květů	stems of dodder of fertile dodder without flowers
		15.	květy z 14. vzorku	flowers of the 14th sample
		16.	lodyžky kokotice sterilní	stems of dodder of infertile dodder

17. - 19.	1989 ΣAK	17.	vojtěška nenapadená	uninfested lucerne
		18.	vojtěška nenapadená kokoticí	lucerne infested with dodder
		19.	kokotice	dodder
20. - 28.	1990 N-látky bílkoviny ΣAK	20.-21.	vojtěška nenapadená	uninfested lucerne
		22.-25.	vojtěška nenapadená kokoticí (bez kokotice)	lucerne infested with dodder (without dodder)
		26.-28.	lodyžky kokotice (ze vzorků 22-25)	stems of dodder of dodder (from samples 22 to 25)
29. - 37.	1990 stejné vzorky jako <sup>6</sup> 20.-28. volné <sup>7</sup> AK	29.-30.	vojtěška nenapadená kokoticí	lucerne uninfested with dodder
		31.-34.	vojtěška napadená kokoticí (bez kokotice)	lucerne infested with dodder (without dodder)
		35.-37.	kokotice (ze vzorků 31-34)	dodder (from samples 31 to 34)
38.-45.	1990 ΣAK N-látky bílkoviny	38.-41.	vojtěška napadená	infested lucerne
		42.-45.	kokotice sterilní i s poupaty ze vzorků 42-45	sterile dodder with buds from samples 42 to 45
46. - 43.	1990 volné AK	46.-49.	vojtěška napadená (stejný materiál jako vzorky 38-41)	lucerne infested (identical material as in samples 38 to 41)
		50.-53.	kokotice (stejný materiál jako vzorky 42.-45.)	dodder (identical materials as in samples 42 to 45)

<sup>1</sup>analyses; <sup>2</sup>time and kind of analysis; <sup>3</sup>number of sample; <sup>4</sup>crude protein; <sup>5</sup>protein; <sup>6</sup>the same samples as; <sup>7</sup>free AK

## MATERIÁL a METODY

Z porostů vojtěšky napadených kokotící povázkou - *C. epithymum* subsp. *trifolii* byly odebírány lodyhy vojtěšky zdravé nenapadené kokotící a lodyhy vojtěšky napadené kokotící. Po přenesení do laboratoře v PE sáčcích byly vzorky roztrženy, kokotice oddělena od hostitele a vzorky byly sušeny při 60 °C. Dusíkaté látky (N-látky) byly stanoveny destilační metodou podle Kjeldahla na přístroji Kjeltec Auto.

Obsah bílkovin byl stanoven srážecí metodou taninem jako tzv. „čisté bílkoviny“ (D a v í d e k , 1981). Po vysušení a mineralizaci byl stanoven obsah bílkovinného dusíku na též přístroji.

Obsah veškerých aminokyselin byl stanoven po kyselé hydrolyze 6N roztokem HCl v zatavených ampulích při teplotě 105 °C po dobu 24 hodin na automatickém analyzátoru aminokyselin AAA-339 (výrobce Mikrotechna Modřany - Praha). Obsah volných aminokyselin byl stanoven v etanolovém extraktu po předchozím vysrážení bílkovin 5% taninem a po zahuštění roztoku na uvedeném analyzátoru. Z aminokyselin byly stanoveny tyto aminokyseliny (AK): zásadité aminokyseliny - arginin (Arg), histidin (His), lysin (Lys); kyselé aminokyseliny - kyselina asparagová (Asp), kyselina glutamová (Glu) a neutrální aminokyseliny - alanin (Ala), fenyloalanin (Phe), glycin (Gly), isoleucin (Ile), leucin (Leu), metionin (Met), prolin (Pro), serin (Ser), treonin (Thr), tyrosin (Tyr) a valin (Val). Výsledky analýz obsahu aminokyselin jsou uváděny v mikromolech na gram sušiny a uváděné hodnoty obsahu stanovených látek představují aritmetický průměr paralelních opakovaných stanovení. Průkaznost rozdílů byla zjišťována pomocí párového a nepárového testu. Základní údaje o analyzovaných vzorcích jsou uvedeny v tab. I.

## VÝSLEDKY

Z jednotlivých skupinových analýz vzorků materiálu kokotice, vojtěšky napadené a nenapadené, odebraných ze stejného porostu a zpracovaných stejným způsobem, vyplynuly následující poznatky: Obsah N-látek i bílkovin je ve vojtěšce i kokotici rozdílný v závislosti na obdru vzorků. Obsah bílkovin byl zhruba o 5 až 10% nižší než obsah N-látek. Ve stejných odběrech byl u srovnávaných materiálů zjištěn markantnější rozdíl v obsahu bílkovin (tab. II), který byl obdobný rozdílům v obsahu aminokyselin.

II. Obsah sušiny, N-látek a bílkovin ve vzorcích nenapadené a napadené vojtěšky a kokotice The content of dry matter, crude protein and protein in the samples of infected and uninfected lucerne and dodder

Číslo vzorku <sup>1</sup>	Obsah sušiny <sup>2</sup> [%]	Obsah N-látek na sušinu <sup>3</sup> [%]	Obsah bílkovin na sušinu <sup>4</sup> [%]
9	19,37	20,49	18,71
10	21,50	21,17	17,52
11	35,19	21,16	15,85
12	16,85	14,68	11,27
13	13,16	15,19	9,98
20	34,38	21,92	17,30
21	33,28	22,38	17,36
22	35,23	21,30	16,78
23	33,88	21,61	16,59
24	35,20	19,01	14,45
25	37,05	19,89	15,35
26	25,52	15,56	8,89
27	27,29	11,93	8,55
38	17,61	30,80	22,05
39	18,42	34,66	24,97
40	20,70	29,46	20,28
41	21,80	29,01	19,37
42	11,73	25,99	14,88
43	18,95	30,84	15,01
44	13,18	28,00	15,01
45	20,16	27,97	14,67

<sup>1</sup>number of sample; <sup>2</sup>dry matter content; <sup>3</sup>crude protein content for dry matter; <sup>4</sup>protein content for dry matter

V dalších tabulkách jsou uvedeny obsahy veškerých (vázaných) aminokyselin nebo volných aminokyselin. V tab. III nejsou u vzorků 1 až 3 patrné významné rozdíly v obsahu veškerých aminokyselin mezi odlišnými lodyhami vojtěšky a kokotice s ojedinělými květy. Naopak lodyžky kokotice s velkým počtem květů měly vyšší obsah sumy veškerých aminokyselin než odlišné lodyhy vojtěšky a lodyžky s ojedinělými květy. Pozoruhodné bylo podstatné zvýšení obsahu Arg u vzorku 3 a snížení obsahu Pro u téhož vzorku ve srovnání se vzorky 1 a 2. Výsledky analýz vzorků 4 až 8 naznačily, že u kokotice s malým počtem květů byl v samotných lodyžkách vyšší obsah veškerých AK na sušinu než v květech stejných rostlin. U bohatě kvetoucí kokotice byl naopak v květech

III. Obsahy vázaných aminokyselin v kokotici a ve vojtěšce napadené a nenapadené [mol na 1 g sušiny] - Content of bound amino acids in dodder and lucerne infested and uninfested [mol per 1 g of dry matter]

AK	Čísla analyzovaných vzorků <sup>1</sup>																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Arg	17	26	36	52	48	36	44	37	39	34	38	40	34	52	62	50	40	41	33
His	13	9	10	20	18	14	20	14	15	13	14	9	7	33	38	32	37	36	26
Lys	33	22	23	35	32	29	39	33	53	47	50	26	25	61	74	53	53	58	28
Asp	70	58	73	53	51	48	57	54	134	119	114	47	46	117	150	118	113	125	80
Glu	56	58	67	55	54	44	55	55	101	97	101	49	48	125	162	119	93	102	74
Ala	47	51	59	47	45	40	44	51	99	92	94	44	37	111	143	100	86	95	57
Phe	22	21	27	22	20	20	21	17	33	28	31	20	16	76	100	70	46	45	40
Gly	57	53	61	47	42	44	45	50	93	85	93	40	35	92	123	81	80	90	63
Ile	21	23	27	24	21	20	23	24	28	28	30	13	13	52	68	44	45	50	35
Leu	50	50	69	46	42	38	42	42	46	72	62	70	29	37	95	123	89	75	79
Met	7	10	10	8	8	7	8	11	7	8	10	12	9	8	13	6	9	10	7
Pro	44	42	29	27	27	25	31	27	69	72	73	40	27	80	106	131	73	75	44
Ser	47	41	54	36	35	33	36	37	64	61	66	33	29	58	73	58	52	58	43
Thr	21	30	33	28	26	26	28	29	53	52	56	24	22	57	74	54	49	55	36
Tyr	14	16	21	16	15	15	17	21	24	21	24	22	13	31	38	30	35	34	38
Val	40	35	43	35	30	29	35	33	54	51	52	31	26	81	103	65	61	69	47
ΣAK	559	545	642	551	514	468	545	539	938	870	916	479	424	1129	1450	1100	947	1022	706

<sup>1</sup> numbers of analyzed samples

IV. Obsahy vázaných aminokyselin (vzorky 20-28) a volných aminokyselin (vzorky 29-37) v nenapadené a napadené vojtěšce a v kokotici [mol na 1 g sušiny] - Contents of bound amino acids (samples 20-28) and free amino acids (samples 29-37) in uninfested and infested lucerne and dodder [mol per 1 g of dry matter]

AK	Čísla analyzovaných vzorků <sup>1</sup>																	
	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37
Arg	51	59	56	60	51	52	64	47	52	3	3	3	3	3	2	17	8	10
His	43	45	47	46	43	45	36	31	33	4	4	4	4	2	3	3	2	2
Lys	66	67	67	67	61	63	43	41	45	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Asp	131	146	133	140	109	126	70	61	60	6	6	5	5	4	5	3	3	2
Glu	110	110	111	110	98	103	74	59	67	2	2	2	1	2	1	6	3	4
Ala	110	119	116	120	103	107	66	62	64	22	20	18	18	14	14	9	7	8
Phe	80	80	81	72	78	76	50	43	47	4	3	4	3	2	2	5	2	2
Gly	116	112	111	111	97	100	61	57	57	3	2	2	2	2	2	3	2	2
Ile	58	60	60	61	55	56	36	33	33	3	3	3	3	3	3	3	2	2
Leu	91	93	96	95	86	89	57	50	50	4	3	3	2	5	2	5	2	2
Met	7	7	7	8	8	8	6	5	5	1	0,1	0,6	1	1	1	0,7	0,3	0,3
Pro	175	118	156	131	163	172	87	86	87	53	38	39	36	38	46	34	23	20
Ser	45	50	47	48	45	49	36	32	31	9	11	8	9	6	9	5	4	4
Thr	56	58	56	56	50	53	32	29	29	4	4	3	3	3	3	3	2	2
Tyr	42	42	41	42	41	42	35	35	37	11	11	11	8	11	9	5	2	2
Val	83	84	80	84	75	77	50	45	45	5	4	4	4	3	4	5	2	2
ΣAK	1264	1250	1265	1251	1163	1218	803	716	742	137	117,1	112,6	105	102	109	109,7	67,3	67,3

<sup>1</sup> numbers of analyzed samples

V. Obsah vázaných aminokyselin (vzorky 38 až 45) a volných aminokyselin (vzorky 46 až 53) v napadené vojtěšce a v kokotici [mol na 1 g sušiny] - Contents of bound amino acids (samples 38 to 45) and free amino acids (samples 46 to 53) in infested lucerne and in dodder [mol per 1 g of dry matter]

AK	Čísla analyzovaných vzorků <sup>1</sup>															
	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53
Arg	90	78	87	81	112	157	129	118	6	8	7	7	34	59	55	49
His	107	62	66	63	19	43	35	36	5	6	5	6	12	7	6	7
Lys	66	114	107	103	80	89	77	69	6	7	6	6	7	8	6	6
Asp	219	217	215	225	151	192	130	129	13	16	16	17	16	19	10	11
Glu	150	162	141	142	120	141	113	117	3	4	3	4	14	19	13	17
Ala	151	184	160	156	100	113	88	85	23	45	39	37	14	20	11	10
Phe	113	125	110	120	68	74	72	69	21	25	21	25	7	14	11	11
Gly	154	169	145	143	111	119	103	99	3	5	5	5	8	8	8	7
Ile	93	105	93	95	71	77	66	64	6	9	8	9	6	7	5	5
Leu	144	154	141	134	110	128	100	98	7	9	9	9	14	16	11	11
Met	19	20	19	19	20	19	22	20	3	2	3	1	2	3	3	3
Pro	147	223	121	139	83	88	119	80	12	27	23	33	15	18	27	20
Ser	55	58	61	66	44	48	40	42	25	26	30	34	15	26	14	14
Thr	75	79	74	78	53	59	47	47	6	8	8	10	10	13	6	7
Tyr	71	76	70	70	65	68	67	62	7	8	7	6	8	9	7	8
Val	110	127	114	118	82	89	76	70	7	12	12	15	7	10	8	8
ΣAK	1764	1953	1724	1752	1289	1504	1286	1205	153	217	202	224	189	256	201	194

<sup>1</sup>numbers of analyzed samples

obsah většiny veškerých AK vyšší než u jejich lodyžek. Srovnání celkových  $\Sigma$  AK u vojtěšky vně a uvnitř ohniska ukázalo, že nejvyšší  $\Sigma$  AK byla u nenapadené vojtěšky (vzorek 9) - 938, klesla na okraji ohniska (vzorek 10) na 870 a ve středu ohniska (vzorek 11) se mírně zvýšila na 916. Suma obsahu veškerých AK u vojtěšky a u kokotice ukázala, že u kokotice je obsah v některých případech snížen i pod 50 % (vzorky 12 a 13). Jediná aminokyselina - arginin zůstával v kokotici zhruba na stejné úrovni jako v napadené vojtěšce. V analýzách 14. až 16. se znovu potvrdilo, že není v podstatě rozdílu v obsahu veškerých AK u sterilních a fertálních lodyžek kokotice. Suma veškerých AK byla opětovně v květech vyšší - 1450 (vzorek 15) než v lodyžkách - 1129 (vzorek 14). U vzorků 17. až 19., u kterých se srovnával obsah veškerých AK nenapadené vojtěšky, vojtěšky napadené kokotici a u kokotice byly jen malé rozdíly v obsahu u vojtěšek. Významné ale bylo snížení jejich obsahu u kokotice. Obdobné výsledky jsou i v tab. IV, ve které jsou navíc zachyceny i údaje o obsahu volných aminokyselin, a to zase ve vojtěšce nenapadené (vzorky 20 a 21), napadené kokotici (22 až 25) a v kokotici samotné (26 až 28). Mezi nenapadenou a napadenou vojtěškou nebyly průkazné rozdíly v obsahu veškerých AK. Celková  $\Sigma$  AK byla u kokotice snížena na 61,56 % proti vojtěšce, přičemž obsah Arg zůstával na úrovni vojtěšky.

Při celkovém hodnocení srovnatelných údajů v tab. IV a V, týkajících se obsahu jednotlivých vázaných a volných AK ve vojtěšce (osm případů) a kokotice (sedm případů) nepárovým testem se projevily následující statistické rozdíly mezi hostitelem a parazitem. V případě veškerých AK nebyly u Arg, Lys, Glu, Leu, Met a Tyr zjištěny statisticky průkazné rozdíly v jejich obsahu u obou skupin. K průkaznému snížení obsahu u kokotice proti vojtěšce došlo u His ( $\bar{x} = 59,88$ ,  $\bar{y} = 33,29$ ,  $t = 3,33$ ), Asp ( $\bar{x} = 173,00$ ,  $\bar{y} = 113,29$ ,  $t = 2,29$ ), Gly ( $\bar{x} = 128,75$ ,  $\bar{y} = 86,71$ ,  $t = 2,98$ ), Ile ( $\bar{x} = 77,25$ ,  $\bar{y} = 54,29$ ,  $t = 2,19$ ). Vysoce průkazné snížení obsahu u kokotice bylo zaznamenáno u aminokyselin Ala ( $\bar{x} = 137,13$ ,  $\bar{y} = 82,57$ ,  $t = 4,27$ ), Phe ( $\bar{x} = 96,88$ ,  $\bar{y} = 60,43$ ,  $t = 3,93$ ), Pro ( $\bar{x} = 156,50$ ,  $\bar{y} = 90,00$ ,  $t = 5,44$ ), Ser ( $\bar{x} = 53,63$ ,  $\bar{y} = 39,00$ ,  $t = 4,03$ ), Thr ( $\bar{x} = 65,13$ ,  $\bar{y} = 42,29$ ,  $t = 3,58$ ) a Val ( $\bar{x} = 98,13$ ,  $\bar{y} = 65,29$ ,  $t = 3,18$ ). V obsahu volných Ak nebylo u většiny AK průkazných rozdílů mezi vojtěškou a kokotici. Průkazně vyšší obsah pro kokotici vykazaly aminokyseliny (Arg) ( $\bar{x} = 4,88$ ,  $\bar{y} = 33,14$ ,  $t = 3,43$ ) a Glu ( $\bar{x} = 2,50$ ,  $\bar{y} = 10,86$ ,  $t = 3,37$ ). U jediné AK - ala byl obsah ve vojtěšce průkazně vyšší ( $\bar{x} = 26,00$ ,  $\bar{y} = 11,29$ ,  $t = 3,13$ ).

#### DISKUSE

Různé druhy kokotic jako holoparaziti jsou plně závislí na svých hostitelích. Po proniknutí haustorií parazita do hostitele dochází k přesunu živin do parazita,

a tím k zajišťování jeho životních funkcí. Údajů o chemickém složení a o vztazích mezi hostiteli a parazity není mnoho a týkají se různých hostitelů a různých rodů i druhů rodu *Cuscuta* a *Grammica*. Pokud jde o N-látky, Jeleněv (1956) sledoval obsah celkového a bílkovinného dusíku u hostitele a *C. campestris*. Jerkinbajeva et al. (1977) zkoumali frakční složení dusíkatých látek a obsah volných AK u zdravé a napadené cukrovky kokotici *C. campestris*. Ciferri a Poma (1963) vystavili klíčící *C. epithymum* a úlomky lodyžek a hostitele *Trifolium repens* atmosféře obsahující  $^{14}\text{CO}_2$ . Radioaktivita byla zjištěna u některých organických kyselin a kyselých aminokyselin. Salageanu a Fabian-Galin (1968) studovali příjem značkováného  $^{14}\text{CO}_2$  hostitelskou rostlinou *Rubus idaeus* a sledovali mj. i obsah radioaktivních aminokyselin v listech a stoncích hostitele a u *Cuscuta* sp. Bhattacharya (1976) prokázal velký význam aminokyselin a cukrů při pěstování vegetačních vrcholků lodyžek *C. reflexa* na základní anorganické půdě. Obsah některých volných AK u napadeného jetele egyptského a parazita byly středem zájmu Al-Menoufi (1978). O přemísťování AK lýkovou částí svazku cévního na místo uchycení kokotice *C. europea* pojednávají ve své práci Wolswink et al. (1984). Cenné poznatky přináší práce autorů Poliyath a Mehadevan (1988), kteří se zaměřili na změny obsahu aminokyselin v různých částech neidentifikovaného druhu kokotice z troplů během jejího růstu.

Výsledky našich analýz prokázaly, že obsah veškerých AK v kokotici proti odlišným lodyhám vojtěšky je zhruba na stejné úrovni, zatímco ve srovnání s celou nadzemní částí vojtěšky je podstatně nižší. Dá se usuzovat, že na předpokládaném osmotickém gradientu mezi hostitelem a parazitem se nepodílejí aminokyseliny, ale dříve některé minerální látky a talé cukry. Parazit získává dusík z hostitele v organické formě, o čemž svědčila nízká hladina Mn a Mo u *Cuscuta reflexa* (Bhattacharya, 1977). Jak vyplývá z práce autorů Greenham a Leonard (1965), byl u jmelí, v protikladu k našim poznatkům, vyšší obsah aminokyselin u parazita. Asi to souvisí s tím, že jmelí je poloparazit s listovou zelení, schopný samostatné fotosyntézy, a tím doplňuje přijaté dusíkaté a uhlíkaté látky o produkty vlastní fotosyntézy.

Zvýšený obsah veškerých Ak v květech kokotice by mohl svědčit o sinku, který zajišťuje zesílený přítok stavebních látek do květů a nepochybně i do semen. Tento stav je běžně známý u kvetoucích autotrofních rostlin.

Velmi pozoruhodný se ukázal vysoký obsah argininu v kokotici, který byl přinejmenším na stejné úrovni, ale zpravidla byl průkazně vyšší v hostiteli. Zvyšoval se jak obsah veškerého, tak zejména volného Arg zhruba i na sedmínásobek. To nasvědčuje, že tato AK hraje velmi důležitou roli v metabolismu parazita. O hromadění Arg ve jmelí referoval Urech (1987), který ho považuje za zásobní látku. Podle našeho názoru může Arg sloužit jako zásobní

látku, může být přeměňován na jiné AK nebo amidy a nevyklučujeme ani možnou ochrannou funkci. Zajímavá je práce autorů P a l i a t h a M a h a d e v a n (1988), kteří v rámci výzkumu tropického druhu *Cuscuta* zjistili vysoký obsah bazických AK. Jejich podíl tvořil přes 50 % celkového obsahu AK. Z těchto AK nejvyšší obsah vykazoval Arg. Autoři identifikovali v daném materiálu ve vysokém obsahu neběžnou AK  $\gamma$ -hydroxyarginin. Obsah této AK byl jen o málo nižší než u Arg. Podle nich se jedná asi o hlavní formu transportní AK. U některých námi analyzovaných vzorků se objevil v sousedství Arg pík, který se nepodařilo identifikovat a nevyklučujeme, že mohlo jít rovněž o  $\gamma$ -hydroxyarginin. Z hlediska parazita určitou roli lze připisovat i Glu, která mezi volnými AK měla průkazně vyšší zastoupení. Jak Arg, tak Glu lze považovat za výchozí organické složky při biosyntéze dalších organických sloučenin.

### ZÁVĚR

Skupinové srovnávací analýzy provedené v průběhu let byly zaměřeny na stanovení N-látek, bílkovin (21 vzorků) a volných a veškerých (vázaných) AK (celkem 53 vzorků). Pokud jde o bílkoviny a N-látky jejich obsah byl v kokotici v průměru o 32,53 a 11,63 % nižší než ve vojtěšce. Bohatě kvetoucí kokotice měla vyšší obsah bílkovin než kokotice s ojedinelými květy. Obdobné poměry byly zjištěny i v obsahu veškerých aminokyselin. V kokotici byl obsah veškerých AK nižší než v olistěných lodyhách vojtěšky. Samotné lodyžky kokotice z kvetoucích a nekvetoucích rostlin se nelišily obsahem veškerých AK. Květy kokotice se vyznačovaly vyšším obsahem veškerých AK než lodyžky. Obsah volných AK byl u většiny AK statisticky průkazně nižší u kokotice ve srovnání s vojtěškou s výjimkou Arg, Lys, Glu, Leu, Met a Tyr. Jak u veškerých AK, tak i u volných AK nedocházelo u kokotice ke snížení obsahu (Arg) a Glu, jejichž obsahy zůstávaly na stejné úrovni jako u vojtěšky, nebo se statisticky průkazně zvyšovaly. To svědčí o mimořádném významu obou AK v metabolismu parazita v biochemické přeměně látek a jejich podílu na celkové stavbě rostliny.

### Literatura

- AL-MENOUFI, O. A.: Studies on the parasitism of *Cuscuta* spp. 3. Effect of dodder (*Cuscuta planiflora*) on the amino acid content of Egyptian clover (*Trifolium alexandrinum* L.). Alexandria J. Agric. Res., 26, 1977, s. 447-452.
- BHATTACHARYA, M. K.: Growth requirements of *Cuscuta reflexa*. Biol. Plant., 18, 1976, s. 415-420.
- BHATTACHARYA, M. K.: Interlink in mineral composition between host and parasite during *Cuscuta* infection. Acta agron. Acad. Sci. Hung., 26, 1977, s. 324-328.

- CIFERRI, O. - POMA, G.: Fixation of carbon by *Cuscuta epithimum*. Life Sci., 3, 1963, s. 158-162.
- DAVIDEK, J.: Laboratorní příručka analýzy potravin. Praha, SNITL, Alfa 1981.
- GREENHAM, C. G. - LEONARD, O. A.: The amino acids of some mistletoes and their host. Amer. J. Bot., 52, 1965, s.41-47.
- JELENĚV, L. K.: Někotoryje voprosy pitanija poviliki. Fiziol. Rast., 3, 1956, s. 470-479.
- JERKINBAJEVA, A. A. - ČERNYSEVA, T. V. - VEBER, L. A.: Izmenežije azotsoděržaščich vščestv u sacharnoj svekly pri poraženii povilikoj. In: FEDOROV, S. P. (Ed.): Fiziologo-biochemičeskije osobennosti sacharnoj svekly v uslovijach Kirgizii. Frunze 1977, s. 3-10.
- POLIYATH, G. - MAHADEVAN, S.: Changes in the levels of free amino acids in various regions of *Cuscuta* during growth. Cell Physiol., 29, 1988, s.945-950.
- SALAGEANU, N. - FABIANGALN, G.: Studies on the nutrition of *Cuscuta* sp. Revue Romaine de Biologie, Ser. Bot., 13, 1968, s. 321-324.
- URECH, K.: Accumulation of arginine in *Viscum album* (L.). In: WEBER, Ch. - FORSTREUTER, W.: Parasitic flowering plants. Proc. 4th ISPPF, Marburg, 1987, s. 781-788.
- WOLSWINKEL, P. - AMMERLAAN, A. - PETERS, H.F.C.: Phloem unloading of amino acids at the site of attachment of *Cuscuta europea*. Physiol., 75, 1984, s. 13-20.

Došlo dne 20. 10. 1991

*M. Frolíšek (Fodder Crop Research Institute, Troubsko u Brna, Czechoslovakia)*

**Chemical composition of dodder - *Cuscuta epithimum* subsp. *trifolii*  
(Babingt. et Gibson) Berger - and the study of  
*Medicago sativa* L. plant - parasite relationship**

The genera *Cuscuta* and *Grammica* comprise a large number of plant species attacking a wide range of host plants. Predominantly species causing damage to agricultural crops are of economic importance. Lucerne (*Medicago sativa* L.) serves very frequently as a host for species of the genus *Cuscuta*. In Czechoslovakia, the most common species are *C. epithimum* subsp. *trifolii* (Babingt. et Gibson) Berger and *Grammica campestris* (Yunker) Hadač et Chrtěk. As they are difficult to control, a hypothesis has been formulated that through studies chiefly of chemical composition they might contribute to more effective dodder control.

The objective of the study was to compare the contents of major constituents, see crude protein, proteins, and amino acids in the individual parts of the parasitic plant and the host plant either uninfested or infested. The pattern of analyses was given in Table I. The contents of crude protein and proteins in lucerne and dodder varied with a sampling strategy (Table II). More pronounced differences between lucerne and dodder were found in protein contents. Dodder had lower contents of proteins than lucerne.

The results of analysis of the contents of bound and free amino acids were shown in Tables II, IV and V. The results obtained furnished a basis for the following conclusions. There were no differences in the total amount of bound amino acids between foliated stems of lucerne and dodder stems with sporadic flowers. The stems of dodder at the full-bloom stage had significantly higher contents of total amino acids (samples 1 and 3). Samples 4 - 8 suggested

that the stems of sporadically flowering plants had higher contents of total amino acids than the flowers. In dodder plants at the full bloom stage, the flowers contained a higher level of total amino acids than the stems. As for bound amino acids, there were no differences between stems from non-flowering and intensively flowering dodder plants. The flowers of dodder had higher contents of bound amino acids than the stems (samples 14 - 16). It was suggested and confirmed by several analyses that the total content of bound amino acids in dodder was markedly lower than in infested lucerne, the decrease being 30 to more than 50%. The content of arginine in dodder remained the same as in lucerne. The differences between uninfested and infested lucerne plants were only negligible and insignificant (samples 20 - 25).

The evaluation of corresponding data shown in Tables IV and V concerning the contents of bound and free amino acids in lucerne (8) and dodder (7) using the unpaired test revealed that there were no significant differences in the contents of bound amino acids (arginine, lysine, glutamic acid, leucine, methionine, and tyrosine) between the host and the parasitic plants. In dodder, a significant decrease in histidine, aspartic acid, glycine, and isoleucine and a highly significant reduction in alanine, phenylalanine, proline, serine, threonine, and valine were observed. There were no significant differences in a majority of free amino acids between lucerne and dodder. In dodder, significantly higher contents of arginine and glutamic acid were recorded, arginine increased nearly sevenfold and glutamic acid more than fourfold. In lucerne, alanine was the only amino acid characterized by a significantly higher content. Average values for amino acid contents in lucerne and dodder and *t* values characterized by significant differences were given. As for bound and free amino acids there was no reduction in the contents of arginine and glutamic acid in dodder. The levels of arginine and glutamic acid were consistent with those of lucerne or significantly higher. The role of these amino acids in the metabolism of the parasitic plant is considered to be of great importance.

*Medicago sativa* L.; plant material; *Cuscuta* sp.; chemical composition; crude protein; proteins; amino acids

# ŽIVOTNÍ JUBILEA

K šedesátinám ing. Vladimíra Řeháka, CSc.

V životě se jen vzácně setkáváme s osobnostmi, které svoji pílí, bez ohledu na obtíže a osobní strasti, dovedou své činnosti naplňovat tak, aby směřovaly nejen k zajištění svěřených odborných povinností, ale současně přispěly k rozvoji vědní disciplíny. Patří k nim náš jubilant, který se narodil 23.5.1932. Po skončení základního vzdělání pracoval jako praktikant u Státních lesů. V roce 1954 maturoval na čtyřleté zemědělské škole v Roudnici n. L. a nastoupil do Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského (ÚKZÚZ). Při zaměstnání studoval Vysokou školu zemědělskou v Praze se specializací na ochranu rostlin. V roce 1992 obhájil na stejné škole kandidátskou disertační práci věnovanou karantenním škůdcům a prognóze výskytu květilky řepné.

Pracovní zařazení ho přivedlo do ochrany rostlin, která se stala jeho zálibou a získala si ho na celý život. V prvních rocích své činnosti v ÚKZÚZ se zabýval předpovědí živočišných škůdců a jejich evidencí. V letech kalamitního výskytu květilky řepné se věnoval převážně tomuto škůdci, shromáždil a uveřejnil o něm řadu pozoruhodných poznatků z bionomie i škodlivosti a prognózy jeho škodlivého výskytu. Jako první na našem území usiloval o počítačové zpracování prognostických dat o škůdcích. Později se jeho činnost rozšířila o úsek zkoušení chemických přípravků na ochranu rostlin, ověřování nových zkušebních metod a zavádění karantenních opatření proti škodlivým organismům. V roce 1968 byl pověřen vedením oddělení karantény a ochrany rostlin v Praze. Pracoval na úseku ochrany proti háďátku bramborovému s důrazem na využití integrovaných způsobů, založených na střídání plodin, pěstování odolných odrůd a doplňující chemické dezinfekci půdy. V řešení problémů karantény rostlin proti škodlivým organismům inicioval a prosazoval nové metodické přístupy pro pracovníky československé rostlinolékařské služby založené na mezinárodních požadavcích. Jubilant se rozhodující mírou podílel na novelizaci a tvorbě všech karantenních právních norem i na zpracování metod odborných expertíz. Kromě uvedených činností v ochraně rostlin působí jako soudní znalec pro základní obor ochrana přírody na úseku hodnocení škod způsobených imisemi na kulturních rostlinách.

Bohatá je oponentní, lektorská a společenská činnost jubilanta ve vědeckých radách výzkumných ústavů, v redakční radě časopisu *Ochrana rostlin* a v odborné skupině rostlinolékařů Zemědělské společnosti, v níž léta působí jako vědecký tajemník.

Zásluhy jubilanta o rozvoj ochrany rostlin nelze hodnotit bez jeho charakterových vlastností, z nichž je vhodné zdůraznit jeho přátelské, ale kritické jednání a dlouholetou neutuchající snahu o účelnou spolupráci s výzkumnými ústavy, které řeší problémy rostlinolékařství. Je proto málo poznatků výzkumu, na jejichž zavádění by se nepodílel a jejich realizaci neprosazoval. Široký odborný rozhled a zkušenosti v mnoha činnostech rostlinolékařské péče motivovaly jeho jmenování do funkce ředitele Správy ochrany rostlin ÚKZÚZ, jíž cílevědomě rozvíjí.

Redakční rada časopisu přeje našemu jubilantu do dalších roků pevné zdraví, osobní pohodu a naplnění všech cílů, jimž zasvětil téměř 40 let odborné práce.

*Doc. RNDr. Josef Šedivý, DrSc.*

## KRÁTKÁ SDĚLENÍ

### VZTAH MEZI REZISTENCÍ *TRIFOLIUM PRATENSE* L. VŮČI VIRU ŽLUTÉ MOZAIKY FAZOLU (BYMV) A NĚKTERÝM DRUHŮM RODU *FUSARIUM*

Jan NEDĚLNÍK, Radovan POKORNÝ

Výzkumný ústav pícninářský, 664 41 Troubsko u Brna

Šlechtění na rezistenci k různým patogenům je v současné době jedním z nejdůležitějších úkolů při tvorbě nových odrůd. Při výběru rezistentních materiálů je důležité znát, zda se vliv nepříznivých genových vazeb rezistence k jednomu druhu patogena negativně neodráží v některých jiných znacích, např. výnose, kvalitě, ale také i v rezistenci k jiným druhům patogenů. Na našem pracovišti se zabýváme výběrem materiálů jetele lučního (*Trifolium pratense* L.) rezistentních k viru žluté mozaiky fazolu (bean yellow mosaic virus - BYMV) a k houbovým patogenům z rodu *Fusarium*. Proto jsme se v této práci zaměřili na zhodnocení vztahů mezi rezistencí k těmto patogenním činitelům.

Do korelační analýzy bylo zahrnuto několik souborů odrůd, kmenů a ekotypů jetele lučního o různém počtu členů (tab. I). Testy rezistence vůči BYMV byly prováděny ve skleníku, rostliny byly inokulovány virem mechanicky a napadení bylo vyjádřeno jako procento rostlin s příznaky virové infekce (mozaika, prosvětlování žilek, kaděřavění listů, nekrózy aj.) (P o k o r n ý , 1989b). K inokulaci byl u souboru odrůdy I použit izolát Tp-SI 1, u dalších souborů směs izolátů TP-SI 1, Tv-T 1 a B 6 (J u r í k , 1981; P o k o r n ý , 1989a). U každého kmene bylo hodnoceno 20, u odrůd 30 a u ekotypů 25 rostlin.

Testy rezistence vůči houbám rodu *Fusarium* probíhaly v kontrolovaných laboratorních podmínkách (N e d ě l n í k , 1986) s výjimkou nšl. HŽ-III, u kterého byla rezistence testována ve skleníku. Kromě HŽ-III byla u všech dalších souborů zjišťována rezistence vůči *Fusarium solani*, u kmenů nšl. HŽ V byly navíc zařazeny testy rezistence vůči *Fusarium oxysporum* a směsi obou druhů. Směsné inokulum bylo aplikováno také u souboru odrůdy II a nšl. HŽ-III.

Použitý infekční materiál je uložen v mykotéce VÚP Troubsko pod čísly 147, 194 (*Fusarium solani*) a 162 (*Fusarium oxysporum*). Izoláty byly získány z nekrotických kořenových pletiv rostlin jetele lučního na lokalitách Domoradice, Rostěnice a Troubsko. Podrobné údaje o výsledcích některých testů byly uvedeny v dřívějších pracích (N e d ě l n í k , 1986, 1989; P o k o r n ý , 1989b).

U žádného z testovaných souborů nebyl prokázán silnější korelační vztah mezi rezistencí jetele lučního vůči BYMV a houbám rodu *Fusarium*. Hodnoty korelačních koeficientů se pohybovaly v rozpětí -0,25 až +0,23 a nepřesáhly podle B r a v a i s e (cit. sec. D u b o v s k ý et al., 1969) hranici pro slabou (kladnou nebo zápornou)

korelaci mezi sledovanými znaky (tab. I). Z celkového počtu 11 zjištěných korelačních koeficientů byly dva průkazné, což znamená, že v těchto případech můžeme vztah testovaných znaků považovat za hodnověrný. U ostatních korelačních koeficientů se difference oproti tabulkovým hodnotám pohybovaly na hladině pravděpodobnosti  $P_{0,05}$  od 0,05 do 0,34  $P_{0,01}$  od 0,05 do 0,46.

I. Korelační koeficienty vyjadřující vztah mezi rezistencí původů *Trifolium pratense* k BYMV a některým druhům rodu *Fusarium* - Correlation coefficient representing relationship between resistance of *Trifolium pratense* origin to BYMV and some species of *Fusarium* genus

Soubor <sup>1</sup>	Počet členů <sup>2</sup>	FS	FO	F směs
Kmeny <sup>3</sup> HŽ-III	40	-	-	0,13
Kmeny HŽ-V/I	107	-0,11	0,07	-0,200*
Kmeny HŽ-V/II	95	-0,25*	0,01	-0,06
Odrůdy <sup>4</sup> I	15	-0,22	-	-
Odrůdy II.	27	0,23	-	0,18
Ekotypy <sup>5</sup>	11	-0,21	-	-

Holds for Tables I and II:

FS - *Fusarium solani*; FO - *Fusarium oxysporum*; F směs - mixture of *Fusarium solani* + *Fusarium oxysporum*;

<sup>1</sup>set; <sup>2</sup>number of element; <sup>3</sup>strain; <sup>4</sup>varieties; <sup>5</sup>ecotypes

Pro praktické šlechtění je možné volit způsob postupné selekce k jednotlivým patogenům, zde ovšem hrozí nebezpečí velkého zúžení genetického spektra, což může mít negativní důsledky na hodnoty dalších významných znaků.

Druhým způsobem je možnost oddělené selekce různých původů jetele lučního k jednotlivým druhům patogenů a až v závěrečné fázi šlechtitelského procesu se pokusit o syntézu takto získaných materiálů. I při těchto oddělených selekcích je možné získat původy, které jsou odolné jak k BYMV, tak i houbám rodu *Fusarium* a, jak vyplývá z tab. II, někdy i ve vysokém procentu.

II. Procento původů *Trifolium pratense* rezistentních současně k BYMV a některým druhům rodu *Fusarium* - Percentage of *Trifolium pratense* origins resistant at the same time to BYMV and some species of the *Fusarium* genus

Soubor <sup>1</sup>	FS	FO	F směs
Kmeny <sup>3</sup> HŽ-III	-	-	0
Kmeny HŽ-V/I	11,2	43,0	10,3
Kmeny HŽ-V/II	24,2	36,8	13,7
Odrůdy <sup>4</sup> I	0	-	-
Odrůdy II	22,2	-	18,5
Ekotypy <sup>5</sup>	0	-	-

## Literatura

- DUBOVSKÝ, J. et al.: Poľné pokusy. Príroda 1969, s. 364.
- JURÍK, M.: Transmission of nonpersistent virus by aphids carrying a circulative virus. Plant Virology. Proc. 9th Conf. Czechoslov. Pl. Virol., 1981, s. 77-80.
- NEDĚLNÍK, J.: Citlivost některých odrůd jetele lučního k vybraným druhům *Fusarium* spp. a vliv fungicidů na růst fuzárií *in vitro*. Ochr. Rostl., 22, 1986, s. 283-293.
- NEDĚLNÍK, J.: Porovnání reakce rostlin jetele lučního na infekci houbou *Fusarium solani* v laboratorních a polních podmínkách. In: Sbor. Věd. Pr. Výzk. šlecht. Úst. pěstn., Troubsko, 11, 1989, s. 197-203.
- POKORNÝ, R.: Patogenita některých izolátů viru žluté mozaiky fazolu a žluté žilkovitosti jetele pro jetel luční. Ochr. Rostl., 25, 1989a, s. 9-15.
- POKORNÝ, R.: Reakce některých odrůd jetele lučního na infekci virem žluté mozaiky fazolu. In: Sbor. Věd. Pr. Výzk. šlecht. Úst. pěstn., Troubsko, 11, 1989b, s. 205-213.

Došlo dne 6.3.1991

J. Nedělník, R. Pokorný (Research Institute for Fodder Plant,  
Troubsko u Brna, Czechoslovakia)

**Relationship between *Trifolium pratense* L. resistance  
to bean yellow mosaic virus (BYMV) and some species of *Fusarium* genus**

Formation of red clover (*Trifolium pratense* L.) with combined resistance to several pathogenic agents is a perspective breeding aim. Correlation relationships between resistance level of red clover to bean yellow mosaic virus (BYMV) and resistance to *Fusarium oxysporum*, *F. solani* or their mixture were compared in this publication. Correlation analysis included several collections of varieties, genotypes and ecotypes. Stronger correlation relationship between resistance level to BYMV and *Fusarium* spp. were not proved by any collection of plants. Values of correlation coefficients did not exceed limit for weak correlation (0,33). Nevertheless it is a possible selection of origins, which have high level of resistance against both pathogenic agents (average per cent origins with this characteristic were 16,35).

*Trifolium pratense* L.; *Fusarium* spp.; BYMV; resistance; correlation

**Upozorňujeme čtenáře a zájemce  
o odbornou zemědělskou literaturu,**

že Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství ve spolupráci se  
Zemědělským nakladatelstvím Brázda vydává:

**NAUČNÝ SLOVNÍK ZEMĚDĚLSKÝ  
13. díl (písmeno Z)**

Publikace je posledním dílem zemědělské encyklopedie, vyjde v rozsahu  
asi 700 stran, předpokládaná cena je 190 Kčs.

Vzhledem k tomu, že stálým odběratelům nebude poslední díl slovníku  
avizován, je třeba zajistit si nové objednávky na adrese:

**Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství,  
oddělení Naučného slovníku a terminologie  
Slezská 7  
120 56 Praha 2**



## OBSAH - CONTENT

Jirátko J., Veselá G.: Effect of plant extracts on the growth of plant pathogenic fungi <i>in vitro</i> - Vliv rostlinných extraktů na růst fytopatogenních hub <i>in vitro</i> . . . . .	241
Kocourek F., Beránková J.: Estimation of larval eclosion of the winter moth, <i>Operophtera brumata</i> L. - Zjišťování doby líhnutí housenek píďalky podzimní, <i>Operophtera brumata</i> L. . . . .	251
Chodová D., Mikulka J.: Comparing some biological and physiological differences of susceptible and resistant common groundsel ( <i>Senecio vulgaris</i> L.) - Srovnání některých biologických a fyziologických rozdílů citlivého a rezistentního starčeku obecného ( <i>Senecio vulgaris</i> L.) . . . . .	263
Mráz I.: Příprava specifických protilátek pro detekci bakterií <i>Erwinia amylovora</i> - Preparation of specific antibodies for detection of <i>Erwinia amylovora</i> bacteria . . . . .	273
Fargašová A., Bojňanský V.: Technická repa ako zdroj nákazy plesne repy ( <i>Peronospora farinosa</i> Fr. f. sp. <i>beate</i> ) pre priame výsevy semenačky cukrovej repy - Industrial sugar-beet crops as a source of sugar-beet downy mildew ( <i>Peronospora farinosa</i> f. sp. <i>beate</i> ) for summer direct sown of sugar-beet crops . . . . .	283
Bojňanský V., Fargašová A., Kráľovič J.: Vplyv minerálnej výživy na výskyt plesne repy ( <i>Peronospora farinosa</i> Fr. f. sp. <i>beate</i> Byf.) v priamych výsevoch semenačiek cukrovej repy - The influence of mineral nutrition on the incidence of beet downy mildew ( <i>Peronospora farinosa</i> f. sp. <i>beate</i> ) in the direct sown sugar-beet seed crops . . . . .	291
Frolíšek M., Novotný F.: Chemické složení kokotice povázky - <i>Cuscuta epithimum</i> subs. <i>trifolii</i> (Babingt. et Gibson) Berger a studie vztahů mezi hostitelem <i>Medicago sativa</i> L. a parazitem - Chemical composition of dodder - <i>Cuscuta epithimum</i> subsp. <i>trifolii</i> (Babingt. et Gibson) Berger - and the study of <i>Medicago sativa</i> L. plant-parasite relationship . . . . .	299

## KRÁTKÁ SDĚLENÍ

Nedělník J., Pokorný R.: Vztah mezi rezistencí <i>Trifolium pratense</i> L. vůči viru žluté mozaiky fazolu (BYMV) a některým druhům rodu <i>Fusarium</i> - Relationship between <i>Trifolium pratense</i> L. resistance to bean yellow mosaic virus (BYMV) and some species of <i>Fusarium</i> genus . . . . .	313
--	-----

## ŽIVOTNÍ JUBILEA

Táborský V.: K 60. narozeninám profesora Josefa Zváry, CSc. . . . .	297
Šedivý J.: K šedesátinám ing. Vladimíra Řeháka, CSc. . . . .	312

---

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  
a tisk ÚVTIZ Praha • © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1992.

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