

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH
INFORMACÍ

OCHRANA ROSTLIN

PLANT PROTECTION

2

ROČNÍK 30 (LXVII)
PRAHA 1994
CS ISSN 0862-8645

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD
SLOVENSKÁ AKADEMIA PŮDOHOSPODÁRSKÝCH VIED

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 - Head of Editorial Board)
Ing. Jozef Huszár, DrSc. (místopředseda - Vice-chairman)

Členové redakční rady — Members of the Editorial Board

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,
DrSc., ing. Cyprián 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.

Zahraniční členové - Foreign Members of the Editorial Board

Dr. I. R. Crute (Great Britain), Dr. R. S. S. Fraser PhD DSc FIHort (Great
Britain), Prof. Dr. K. Hurlé (Germany), Prof. A. Novacky, PhD (USA),
Dr. F. Virányi (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, Czech Republic
tel. 02 / 251 098; Fax: 02 / 257 090

© Institute of Agricultural and Food Information, Prague 1994

DISTRIBUTION OF APPLE MOSAIC VIRUS IN HOP GARDENS OF THE CZECH REPUBLIC

Jaroslav POLÁK

*Research Institute of Crop Production – Division of Phytomedicine,
161 06 Praha 6-Ruzyně, Czech Republic*

The distribution of apple mosaic virus (ApMV) was determined in the main areas of hop growing in the Czech Republic. Samples of hop plants were tested by ELISA, and ApMV was found in all hop gardens. Plants infected within showed no symptoms. ELISA testing proved practically total infection of Czech hop gardens with ApMV.

apple mosaic virus; hop gardens; DAS-ELISA; distribution

Apple mosaic virus (ApMV) and Prunus necrotic ringspot virus (PNRV) are recognized members of the ILAR group (Fulton, 1983). The two viruses are related serologically and intermediate serotypes occur. For this reason the two viruses may be regarded as strains or serotypes of PNRV (Barbara et al., 1978). ApMV isolates and intermediated types of isolates between ApMV and PNRV were obtained from hop in England. ApMV and similar isolates were identified in hop in USA (Fridlund, 1959), England (Legg, 1962), Germany (Schmidt, 1963), Belgium (Epler, 1981), Japan (Sano et al., 1985), Australia (Munro, 1987), New Zealand (Hay et al., 1988, 1991) and Slovenia (Dolinar, 1988, 1991). Apple mosaic virus is now recognized as being widespread and prevalent in hop.

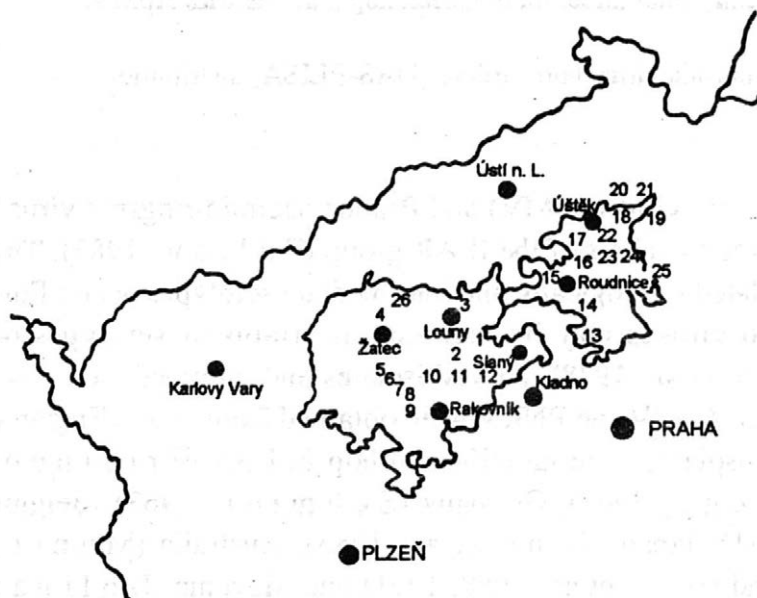
Hop diseases probably caused by ilarviruses, apple mosaic virus and Prunus necrotic ringspot virus, have been described in Czech hops by Blatný (1938). Albrechtová et al. (1979) proved the occurrence of apple mosaic virus (ApMV) in Czech hop, of the varieties Osvald Klon 72 and Early Prolific, by biological and serological methods. In our preliminary screening for the presence of two ilarviruses and two nepoviruses we detected ApMV in all the tested varieties and clones of Czech hop (Polák, Svoboda, 1988, 1991). Infected plants showed no visible

symptoms. In further work we concentrated on the distribution of apple mosaic in the areas of hop growing in the Czech Republic.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

The distribution of apple mosaic virus was determined in hop gardens of 25 localities in the two main areas of hop growing in the Czech Republic, namely Žatec-Rakovník, and Ústěk (Fig. 1). Tips and young leaves of shoots of hop plants were sampled in May and June of 1992 and 1993.



1. Sampling sites for ELISA testing of ApMV in the main hop regions of the Czech Republic in 1992-1993

Serology

The samples were tested by ELISA. One gram of young leaves or tips of shoots was homogenized in 4 ml PBS buffer pH 7.4 with 2% PVP of Commercial antibodies of ApMV (fy Loewe, GFR) were used in ELISA. Usually six plants of hop from every locality were tested. Tested plants were without symptoms.

RESULTS

Apple mosaic virus is widely distributed in both main areas of hop production. Žatec-Rakovník, and Ústěk (Tab. I). There were only few negative

I. Distribution of apple mosaic virus determined by ELISA in some hop gardens (sampling sites) of the two main hop regions in the Czech Republic

Sampling site		Tested in	
		1992	1993
1.	Kutrovice	* 4/4	6/6
2.	Hořešovice	6/6	6/6
3.	Louny	6/5	6/6
4.	Staňkovice	6/6	6/6
5.	Měcholupy	6/6	6/6
6.	Nečemice	6/6	6/6
7.	Milostín	6/6	6/6
8.	Nesuchyně	6/6	6/6
9.	Chrástany	6/6	6/6
10.	Hředle	4/4	6/6
11.	Řevničov	6/6	6/6
12.	Mšec	4/4	6/6
13.	Staré Ouholice	4/4	6/6
14.	Roudnice	6/6	6/6
15.	Černěves	4/2	6/6
16.	Polepy	6/3	6/6
17.	Hrušovany	4/4	6/6
18.	Jiřterpy	6/2	4/4
19.	Ploskovice	4/4	4/4
20.	Liběšice	6/6	4/4
21.	Ústěk	6/6	4/4
22.	Tetčiněves	6/6	4/4
23.	Vědlice	4/4	4/4
24.	Julčín	4/4	4/4
25.	Chcebuz	6/3	4/4
26.	Počerady	-	6/6

* number of tested plants/number of plants positive in ELISA

results of ELISA in 1992 and none in 1993. ApMV was proved by ELISA in all hop gardens are of 25 sites of sampling.

Our results proved that practically all Czech hop gardens are infected with apple mosaic virus. Similar results were obtained in other European countries (e.g. T h r e s h et al., 1988, 1991; R o h l o f f, 1988, 1991; D o l i n a r, 1988, 1991). Hop plants infected with ApMV did not show any visible symptoms. ApMV is probably latent in most varieties of hop grown in the Czech Republic.

Acknowledgement

The author thanks Mrs. Jitka P í v a l o v á for excellent technical assistance.

References

- ALBRECHTOVÁ, L. – CHOD, J. – KRÍŽ, J. – FENCL, J.: Nachweis des Apple mosaic virus und des Tobacco necrosis virus in Hopfen. *Phytopath. Z.*, 94, 1979: 45-55.
- BARBARA, D. J. – CLARK, M. F. – THRESH, J. M. – CASPER, R.: Rapid detection and serotyping of prunus necrotic ringspot virus in perennial crops by enzyme-linked immunosorbent assay. *Ann. appl. Biol.*, 90, 1978: 395-399.
- BLATTNÝ, C.: Poznámka o méně známých virových chorobách. *Ochr. Rostl.*, 14, 1938: 86-87.
- DOLINAR, M.: ILAR-viruses in hop gardens of Slovenia, Yugoslavia. *Proc. Int. Workshop on Hop Vir. Dis.*, Rauischholzhausen 1988, Deutsche Phytomed. Ges., 1991: 83-88.
- EPPLER, A.: Virus-infection of two Belgian hop gardens in 1979. *Med. Fac. Landbouw. Rijksuniv. Gent*, 46/3, 1981: 1101-1106.
- FRIDLUND, P. R.: A latent virus of hops detected by cucumber inoculation. *Pl. Dis. Repr.*, 43, 1959: 594.
- FULTON, R. W.: ILAR-virus group. *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses*, 275, 1983.
- HAY, F. S. – CLOSE, R. C. – BEATSON, R.: The effect of virus infections on the yield and Alpha/Beta-Acid content of the hop variety Superalpha. *Proc. Int. Workshop on Hop Vir. Dis.*, Rauischholzhausen 1988, Deutsche Phytomed. Ges., 1991: 137-148.
- LEGG, J. T.: Studies on the nettlehead virus disease of the hop (*Humulus lupulus* L.) with special reference to its spread. [Ph. D. Thesis.] University of London, 1962: 184.

- MUNRO, D.: Viruses infecting hop, *Humulus lupulus*, in Australia. Austr. J. Agric. Res., 38, 1987: 83-90.
- POLÁK, J. – SVOBODA, P.: Preliminary results of screening hop varieties and clones for the presence of some hop viruses in Czechoslovakia using ELISA. Proc. Int. Workshop on Hop Vir. Dis., Rauischholzhausen 1988, Deutsche Phytomed. Ges., 1991: 27-32.
- ROHLOFF, H.: ILAR-viruses in German hops. Proc. Int. Workshop on Hop Vir. Dis., Rauischholzhausen 1988, Deutsche Phytomed. Ges., 1991: 89-92.
- SANO, T. – SASAKI, M. – SHIKATA, E.: Apple mosaic virus isolated from hop plants in Japan. Ann. appl. Biol., 106, 1985: 305-312.
- SCHMIDT, H. E.: Die Isolierung eines mechanisch übertragbaren Virus von Ringfleckenkranken Hopfen (*Humulus lupulus* L.). Phytopath. Z., 47, 1963: 192-195.
- THRESH, J. M. – BARBARA, D. J. – ORMEROD, P. J.: The incidence and spread of prunus necrotic ringspot virus in English hop plantings. Proc. Int. Workshop on Hop Vir. Dis., Rauischholzhausen 1988, Deutsche Phytomed. Ges., 1991: 71-82.

Received for publication February 9, 1994

J. Polák (Výzkumný ústav rostlinné výroby, odbor rostlinolékařství, Praha-Ruzyně, Česká republika)

Rozšíření viru mozaiky jabloně ve chmelnicích České republiky

Rozšíření viru mozaiky jabloně – apple mosaic virus (ApMV) bylo stanoveno v hlavních oblastech pěstování chmele v České republice. Vzorky z rostlin chmele byly testovány pomocí ELISA. Přítomnost ApMV byla prokázána ve všech chmelnicích. ApMV byl přítomen v rostlinách chmelu bezpříznakově. Testování pomocí ELISA prokázalo prakticky úplnou infekci českých chmelnic virem mozaiky jabloně.

virus mozaiky jabloně; chmelnice; DAS-ELISA; rozšíření



ADEKO a. s. Vám nabízí

- ☐ **FINANČNÍ LEASING**
- ☐ **ZPROSTŘEDKOVATELSKOU OBCHODNÍ ČINNOST**
- ☐ **PORADENSTVÍ V OBLASTI PODNIKÁNÍ, FINANCOVÁNÍ A ORGANIZACE**

ADEKO a. s.

Slezská 7

120 56 Praha 2

tel.: 258 372 fax: 252 321



TOBACCO RATTLE VIRUS ISOLATED FROM SURFACE WATERS IN THE CZECH REPUBLIC

Zdenko POLÁK

*Research Institute of Crop Production – Division of Phytomedicine,
161 06 Praha 6-Ruzyně, Czech Republic*

A normal and a defective isolate of tobacco rattle virus were detected after ultracentrifugation analysis of surface water sampled from selected lakes and reservoirs in the Central Bohemian area of the Czech Republic.

tobacco rattle virus; surface water; contamination

In virus ecology great attention was paid in the last years to the incidence of virus pathogens in surface waters including sea water. Detection of plant viruses with elongated and isodiametric particles belonging to different taxonomic groups was also the subject of reports coming from various countries (reviewed e.g. by Koenig, 1986). Among them are papers dealing with the discovery of members of tobamovirus, tombusvirus and cucumovirus groups in waters on the territory of former Czechoslovakia (Polák et al., 1990; Polák, Branišová, 1991; Polák, Branišová, 1992).

As far as isolations of tobacco rattle virus (TRV) from a fluvial environment are concerned, two reports by Kontzog et al. (1988) and Kegler et al. (1989) who detected the virus in surface water sampled in north-eastern and eastern parts of Germany, were published.

The occurrence of TRV on Czech territory is not new and has been reported several times, e.g. by Mokrá (1967), Polák (1967), Polák et al. (1968), Polák and Chlumská, (1980) Polák and Procházková (1985) and Polák (1988). Most isolates came from roots of symptomless wild plants.

The article brings further evidence on the presence of TRV in the Czech ecosystem, suggesting that it occurs in the open more often than has been supposed until now.

MATERIAL AND METHODS

Water samples for virus analyses were taken from five lakes and two reservoirs in the area of Central Bohemia (lakes: Strž at Dobříš, Vysokopecký at Příbram, Jevanský and Vyžlovský at Jevany and a small nameless lake close to Praha-Klánovice; reservoirs: at Kamýk n. Vltavou and Štěchovice).

For virus isolation two litre samples of surface water were analyzed by centrifuging at 100 000 g in a Beckman Spinco model L8-80 ultracentrifuge, resuspending the pellets in 2 ml of 0.02M phosphate buffer, pH 7.0, and rubbing them onto leaves of *Nicotiana tabacum* cv. Samsun and *Chenopodium quinoa*.

Samsun tobacco and *N. clevelandii* were used for maintenance of TRV in the greenhouse and as the source plants for further virus transmissions and purification attempts.

Transmissions to differential host plants were carried out according to the results by Schmelzer (1957).

Purification of TRV was attempted according to the protocol by Locatelli and Allen (1979) or by polyethylene glycol precipitation recommended by Harrison and Robinson (1981).

For visualization of virions by electron microscopy, specimens prepared from both ultracentrifugation pellets and crude infectious sap extracted from symptomatic leaves, stem and petiole necroses developed after virus transmission in Samsun tobaccos and *N. clevelandii*, were negatively stained by means of 2% potassium phosphotungstate, pH 7.2. Morphometric data on virus particles were derived from magnified electronograms by comparison with tobacco mosaic virus (TMV) virions used as standard, mounted in the same way and taken at the same magnification of the microscope.

Serodiagnosis of TRV was performed by double diffusion test in agar (using 0.6% Ionagar 2 dissolved in 0.018M McIlvaine buffer, pH 7.0, enriched with 0.02M NaN_3) with crude sap extracted from homogenates of detached symptomatic parts of Samsun tobaccos. Tests were carried out with antiserum kindly supplied by Dr. D. Z. Maat from the Phytopathological Institute, Wageningen, The Netherlands.

Immune electron microscopy was carried out according to Milne and Luisoni (1977) by decoration technique of virus particles immobilized on the grid after leaf dipping and application of TRV antiserum.

As control, a green strain of TMV was used as well as TMV antiserum prepared in our laboratory from this strain.

RESULTS AND DISCUSSION

Virus-like particles and/or infectivity were associated with pellets obtained by ultracentrifugation of four water samples originating from the Kamýk reservoir (Isolate No. 1), the nameless lake at Klánovice (Isolate No. 2) and both lakes close to Jevany (Isolates No. 3 and 4).

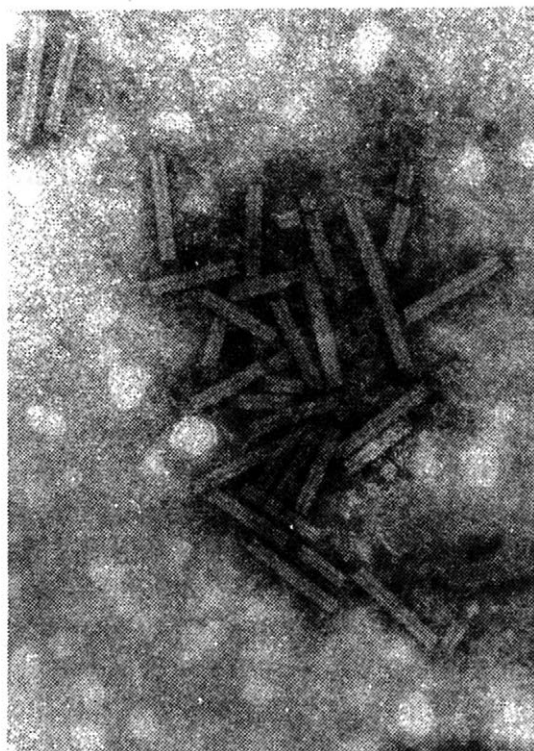
Isolate No. 1: In centrifugation pellets, a few short rigid rod-like particles resembling virions were found. After inoculation to Samsun tobacco leaves local necrotic lesions and spots of various size and shape developed before systemic infection occurred in form of a mild mosaic, followed by necroses, in oak-leaf patterns, stem necroses and shortened internodia. Both *C. quinoa* and *N. clelandii* revealed local necrotic lesions, but in the later the infection proceeded to a systemic deformation of leaf blades. The isolate was easily transmissible and relatively highly contagious. It was transmitted without difficulties to further susceptible hosts as follows: *Nicotiana glutinosa* (minute necrotic spots and leaf deformations with mild mosaic), *Cucumis sativus* (yellow local lesions getting necrotic), *Pisum sativum* (local necrotic lesions), *Phaseolus vulgaris* cv. Prince (local necrotic lesions on the first true leaves), *Callistephus chinensis* (systemic clearing of intercostal tissue, minute brown necrotic spots and leaf deformations).

Purification of the virus isolate was done by polyethylene glycol precipitation; purificate was then examined for morphology of particles in an electron microscope. Measurements of 220 distinctly visible particles revealed two predominant lengths with a modal value of 190 nm for long particles and 60–80 nm for short virions (diameter more than 20 nm for both) (Fig. 1).

Serodiagnosis done by the double diffusion test in agar revealed well developed specific precipitation lines when either antigen in the form of crude infectious sap extracted from Samsun tobacco or *N. clelandii* or purified virus was used.

Together, the results of electron microscopy, serodiagnosis and biological characteristics proved that the isolate is identical with TRV and belongs to its normal strains.

Isolate No. 2: Although the inoculation of 15 plants of Samsun tobacco resulted in two positive infections, no virus particles were found in centrifugation pellets of the water sample. The symptoms were local necrotic lesions of various size and shape in leaves, followed by formation of severe necroses in petioles and stems. Due to severely shortened internodia the infected plants became stunted and assumed a bushy appearance. Symptomatic



1. Tobacco rattle virus - normal strain. Purified virus stained with 2% potassium phosphotungstate. Magnified 160 000x

plants, however, did not reveal any systemic symptoms on uninoculated top and upper leaves later on.

Inoculated *C. quinoa* plants showed only a few local lesions. Manual inoculation experiments carried out with sap extracted from necrotic stem tissue of infected tabaccos did not increase the number of infected individuals. Neither did the phenol extraction recommended by Harrison and Robinson (1981). Most attempts to transmit the virus entity to some species that are members of the TRV host range also failed, with the exception of a few positive infections of *Datura stramonium* (mild systemic mosaic), *Tetragonia expansa* (a few necrotic local lesions followed by systemic vein clearing), *Phaseolus vulgaris* cv. Prince (brown local lesions).

Attempts to purify the virus from the limited amount of infectious material and using both abovementioned purification methods failed. A serological test of double diffusion in agar against crude sap extracted from tissues with symptoms was also negative.

On the other hand, electron microscopical investigations of negatively stained leaf dips revealed very few rod-like particles that were about 190 and 63 nm long, with a diameter of 25 nm. (These morphometric data were

derived for long virions from measurements of 15 clearly visible particles, and 24 particles for short ones). Dips prepared from leaves with symptoms were also used for immune electron microscopy (IEM). Using TRV antiserum, we succeeded in visualize the virus-antibody complex: individual particles were coated with a halo of antibody. This positive decoration reaction was not seen using TMV antiserum as control.

On the basis of our results achieved by IEM, particle morphology studies and studies of biological as well as serological properties it can be concluded that the causal agent is identical with TRV, but is a defective strain of it.

Isolates No. 3 and 4: Pellets from water samples after centrifugation revealed the presence of single rod-like particles. After rubbing the pellets onto plants of Samsun tobacco, a systemic mild green mosaic with sporadic minute necroses, necrotic ringspots or oak-leaf patterns developed. Further manual transmissions from systemically infected Samsun tobacco to Xanthi tobacco plants showed necrotic local lesions on inoculated leaves without any systemic spread of the virus.

Electron microscopy of crude infectious tobacco sap revealed many of rigid rod-like particles of a modal length of 300 nm.

Specific precipitation lines occurred in double diffusion tests using crude infectious sap and TMV antiserum.

From the above results it became clear that both isolates from the Jevany lakes belonged to the tobamovirus group. Members of this group occur very frequently in surface waters on Czech territory, as shown by P o l á k et al. (1990) who discovered the presence of tobacco mosaic, tomato mosaic and ribgrass mosaic viruses.

TRV seems to be an unusually mutable virus and even single-lesion isolates from the same stock culture can be distinguished by slight differences in symptoms they induce. TRV isolates fall into two groups. Those in the first group are relatively stable and are readily transmitted by manual inoculation. They are called M or normal isolates, and our Isolate No. 1 belongs to this group. Isolates in the second group are sap transmissible with difficulties and are rather unstable in the sap. They are called NM or defective isolates (our Isolate No. 2). These properties are a consequence of the nature of the infective entity which is protected or remains unprotected by a coat protein. Both types of isolates may produce systemic symptoms, but those caused by NM isolates are usually slower to develop and more necrotic. However, such differences in symptoms are affected by seasonal influences,

and indeed on many occasions plants showing symptoms apparently typical for NM isolates have subsequently proved to contain also nucleoprotein particles (Harrison and Robinson, 1981).

According to our previous experience, the danger of spontaneous infection in nature stems from the fact that host species can be infected without showing symptoms, and that such symptomless infection also occurs when TRV is confined to the roots, as commonly happens in many naturally infected plant species.

This phenomenon is the main barrier to discover the species responsible for persistence of the virus in nature and for contamination of surface waters which could come from the rhizosphere of littoral plant associations or some littoral plant debris.

References

- HARRISON, B. D. – ROBINSON, D. J.: Tobraviruses. In: KURSTAK, E. (Ed.): Handbook of Plant Virus Infections. Comparative Diagnosis. Elsevier (North Holland Biochemical Press), 1981: 515-540.
- KEGLER, H. – KONTZOG, H. G. – RICHTER, J.: Zur Ökologie des Tabakrattle-Virus. Arch. Phytopathol. Pflanzensch., 25, 1989: 91-93.
- KOENING, R.: Plant viruses in rivers and lakes. Adv. Virus Res., 31, 1986: 321-333.
- KONTZOG, H. G. – KLEINHEMPPEL, H. – KEGLER, H.: Nachweis pflanzenpathogener Viren in Gewässern. Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz., 24, 1988: 171-172.
- LOCATELLI, E. A. – ALLEN, T. C.: Effects of electronmicroscope preparatory techniques on lengths of tobacco mosaic virus. Phytopath. Z., 46, 1979: 273-276.
- MILNE, R. G. – LUISIONI, E.: Rapid immune electronmicroscopy of virus preparations. In: MARAMOROSCH, K. – KOPROWSKI, H. (Eds.): Methods in Virology. 6, 1977: 265-281.
- MOKRÁ, V.: The occurrence of an agent resembling the tobacco rattle virus found on some ornamental plants in Czechoslovakia. In: Plant Virology. Proc. 6th Conf. Czechoslov. Plant Virol., Olomouc, 1967: 181-191.
- POLÁK, Z.: Some further studies on natural occurring viruses in Czechoslovakia. Meded. Rijksfac. Landb.-Wet. Gent, 32, 1967: 922-926.

- POLÁK Z.: Další spontánní hostitelé viru nekrotické kadeřavosti tabáku. Ochr. Rostl., 24, 1988: 1-4.
- POLÁK, Z. – BRANIŠOVÁ, H.: Tombusvirus isolates from surface waters of the Czech Republic. Ochr. Rostl., 27, 1991: 97-100.
- POLÁK, Z. – BRANIŠOVÁ, H.: Plant virus isolations from water of an irrigation ditch. Ochr. Rostl., 28, 1992: 167-169.
- POLÁK, Z. – BRANIŠOVÁ, H. – PROCHÁZKOVÁ, Z.: Tobamoviry v povrchových vodách v Československu. Ochr. Rostl., 26, 1990: 175-179.
- POLÁK, Z. – CHLUMSKÁ, J.: The epiphytological significance of *Erigeron canadense* L. In: Proc. VIIIth. Czechoslov. Pl. Protect. Conf., Prague, Sept. 1980: 131-132.
- POLÁK, Z. – KRÁLÍK, O. – ČECH, M.: A virus of tobacco rattle group naturally occurring in *Plantago* sp. in Czechoslovakia. Biol. Plant., 10, 1968: 31-36.
- POLÁK, Z. – PROCHÁZKOVÁ, Z.: Některé vlastnosti dvou izolátů viru nekrotické kadeřavosti tabáku. Ochr. Rostl., 21, 1985: 167-171.
- SCHMELZER, K.: Untersuchungen über den Wirtspflanzenkreis des Tabak-mauche-Virus. Phytopath. Z., 30, 1957: 281-314.

Received for publication January 5, 1994

Z. Polák (Výzkumný ústav rostlinné výroby, odbor rostlinolékařství,
Praha-Ružyně, Česká republika)

Virus nekrotické kadeřavosti tabáku v povrchových vodách České republiky

Virus nekrotické kadeřavosti tabáku, jeho normální a defektní izolát, byl identifikován ve vzorcích povrchové vody odebraných z kamýcké vyrovnávací vodní nádrže vltavské kaskády a z bezejmenného lesního rybníka v prostoru Klánovic v Praze 9.

Virus byl izolován ultracentrifugací vzorků vody a určen po přenosu na základě reakcí diferenčních hostitelů, morfometrických dat částic, sérodiagnosticky metodou dvojité difúze v agaru a vizualizací komplexu viru a specifické protilátky imunosorbční elektronovou mikroskopií.

virus nekrotické kadeřavosti tabáku; povrchová voda; kontaminace

Ústav zemědělských a potravinářských informací Praha

vydává

ZAHRADNICKÝ NAUČNÝ SLOVNÍK

Po více než 70 letech vychází v České republice zahradnický slovník v moderním pojetí, zahrnující nejen ovocnářství, zelinářství, květinářství, sadovnictví, školkařství, vinařství, léčivé rostliny, kultivované vyšší houby a zpracování ovoce a zeleniny, ale i pro zahradnictví důležité úseky botaniky, fyziologie, genetiky a šlechtění, nové zahradnické biotechnologie a ochranu zahradních plodin.

Předpokládaný rozsah slovníku je 4 až 5 dílů formátu A4 (každý rok počínaje rokem 1994 vyjde jeden díl). První díl bude mít 512 stran textu včetně pérovek a černobílých fotografií a 32 barevných tabulí.

Předpokládaná cena prvního dílu je 295 Kč (bez poštovného).

Závazné objednávky zasílejte na adresu:

**Ústav zemědělských a potravinářských informací
Encyklopedická kancelář
Slezská 7
120 56 Praha 2**

**CONTRIBUTION TO THE STUDY OF PATHOGENICITY
OF *CYTOSPORA SCHULZERI* SACC. ET SYD.
IN CONDITIONS *IN VITRO***

Alice BLECHTOVÁ

Research Institute of Crop Production, 161 06 Praha-Ruzyně, Czech Republic

A modified method of inoculation of segments of branches of the apple variety Spartan was used to study pathogenicity of *C. schulzeri*. 623 segments, distributed into two groups, were cultivated under different conditions - 199 segments in greenhouse and 424 segments in growth-chamber. Larger necrotic spots of bark tissue were created in growth-chamber than in greenhouse. Only 47.7% of segments cultivated in greenhouse and 41.7% of those cultivated in growth-chamber were affected by rot.

die-back of apple tree bark; *Cytospora schulzeri*

In the last years, dieback of apple tree bark has led to loss of production in orchards of cooperative farms in the Czech Republic. The disease is initially manifested rot of the bark, and later associated with wilt and death of portions or whole tree limbs and may spread until the entire tree is destroyed. The increasing problems of cooperative farmers caused to initiate a study of the etiology of dieback of apple tree bark at VÚRV Ruzyně in 1990. During the study, samples of affected bark were collected to isolate and determine the fungal flora. Subsequently, the pathogenicity of the fungi was studied. *Cytospora schulzeri* is the main object studied in the last time.

Past studies differ on whether *C. schulzeri* is a pathogen or it is not. According to Urban (1962), the fungus is a perithophyte, destroying weak host plants. In the opinion of Tikhomirova (1992), the fungus causes preliminary death of twigs. Potlajčuk (1976) emphasizes the fungus is pathogenic in Russia. Kastir and Ficke (1984) do not consider the fungus as a pathogen, because necrotic spots were produced only *in vitro* and not in field trials. Jones and Aldwinckle (1990) suggested that *C. schulzeri* is a saprophytic fungus left on branches that had been killed by different fungi.

Many authors have found a close correlation between the development of symptoms and bark and wood properties. Water deficiency as the cause of development of symptoms was demonstrated by Bier (1959a, b, c, 1961a, b). Bloomberg (1962) found direct correlations between the development of symptoms and fluctuating shoot moisture content, age of shoots, soil moisture content and relative humidity.

Different conditions of cultivation influence the host-pathogen relationship, and changes the development of symptoms. Different mean length of necrotic spots on bark tissue of segments cultivated in bags (mean 35 mm) and in a greenhouse (mean 13 mm) during the cultivation of *C. schulzeri* were found by Kastirr and Ficke (1984).

Stanová (1990) correlates the susceptibility of apricots to infection by the fungus *Cytospora cincta* Sacc. with the depth of damage. The lesions resulting from damage to the xylem enabled active contacts of fungus with plant.

With this work studies of the pathogenicity of *C. schulzeri*, were initiated.

MATERIAL AND METHODS

Strains of *C. schulzeri* were isolated from affected bark of branches of apples, var. Golden Delicious, obtained in Hodonice (Moravia) in summer 1991. They were grown three weeks at 20 °C on potato-dextrose agar (PDA) with 1% bengal red (BR). The trials were performed in May and June, 1992.

The ability of strains to create necrosis of bark was verified according to Borecki and Millikan (1969). Two or three years old branches of var. Spartan were used in trials. Segments of branches 7 cm long were sterilized 1 minute in 96% alcohol, washed in sterile distilled water, and laid on cotton saturated with distilled water in the bottom of sterile Petri dishes. Each segment, only at one site, was longitudinally cut and cross-cut into 2cm sections. The segments were inoculated with plugs of fungus in PDA 0.5 cm in diameter that were inserted under the bark of the cut. The checks segments were inoculated with PDA without the fungus. Inoculated segments were incubated in growth-chamber or greenhouse. Photosynthetic active radiation (during the day: 500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$), humidity (50%) and temperature (15 to 35 °C) in the greenhouse fluctuated with outside conditions. In the growth-chamber the permanent temperature was 20 °C, relative humidity 60% and photosynthetic active radiation 9 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$. After 14 days, the bark at the

site of rot was removed with the knife, and lengths and widths of bark tissue necrosis were measured.

According to Darbyshire et al. (1969), the fungus was cultured on apple tree branches because the pycnidia were not well developed on artificial medium. Against the method described by the above authors, the fungus was transferred on to sterilized blocks. After two to three months in a greenhouse, pycnidia were produced and determined according to Gvritishvili (1982) and Urban (1956).

RESULTS

Several days after inoculation, 17 strains of *C. schulzeri* had started to cause rot of bark tissue in form of elliptical, brown spots. Dark margins of necrotic

I. The indexes of severity

Length of spot [mm]	Index of severity (length - L)	Width of spot [mm]	Index of severity (width - W)
0 - 1	0	0 - 1	0
1 - 5	1	1 - 2	1
5 - 10	2	2 - 3	2
10 - 15	3	3 - 4	3
15 - 20	4	4 - 5	4
20 - 25	5	5 - 6	5
25 - 30	6	6 - 7	6
30 - 35	7	7 - 8	7
35 - 40	8	8 - 9	8
40 - 45	9	9 - 10	9
45 - 50	10	10 - 11	10
		11 - 12	11
		12 - 13	12
		13 - 14	13

spots and compression of affected tissues were seldom present, and eventually cracks between diseased and healthy tissue developed.

The size of each necrotic spot is defined by length and width and expressed as indexes of severity (length – L or width – W), as shown in Table I. The indexes of severity were created on the basis of practical experience, so was not to need so fine standard by measurement.

II. The results of pathogenicity trials

Strain	Results from greenhouse L / W	Results from growth-chamber L / W
N24	–	0 / 0 x 26, 4 / 8, 5 / 6, 6 / 7
N21	0 / 0 x 4	4 / 1
N20	0 / 0 x 19	0 / 0 x 28, 1 / 2, 1 / 3, 2 / 3 x 2, 2 / 5, 3 / 3 x 3, 3 / 4, 4 / 2, 4 / 3, 4 / 4 x 4, 4 / 5, 4 / 6, 5 / 6, 7 / 7, 7 / 11
N18	0 / 0 x 13, 1 / 1, 1 / 2 x 2, 1 / 3 x 2, 2 / 2, 2 / 3, 2 / 5, 3 / 4	0 / 0 x 18, 1 / 4, 2 / 3, 3 / 3, 4 / 4 x 2, 4 / 5 x 3, 4 / 7, 5 / 4, 5 / 5, 5 / 6
N17	0 / 0 x 4, 1 / 1 x 2, 2 / 2 x 2, 3 / 2	0 / 0 x 19, 1 / 2 x 3, 2 / 3, 2 / 4 x 2, 3 / 4, 3 / 5, 4 / 6, 5 / 5, 5 / 6
NI6	0 / 0 x 12, 1 / 1, 1 / 2 x 2, 2 / 1, 2 / 2 x 2, 2 / 3 x 2	0 / 0 x 9, 3 / 5, 3 / 6, 4 / 4 x 2, 4 / 5, 4 / 6, 4 / 9, 5 / 5, 5 / 10, 5 / 11, 6 / 5, 6 / 8 x 2, 6 / 10, 7 / 6, 7 / 11, 9 / 8
N13	0 / 0 x 10, 1 / 2, 1 / 3 x 3, 2 / 2, 2 / 3 x 4, 3 / 3, 3 / 4 x 4	–
N12	0 / 0 x 7, 1 / 1 x 2, 1 / 2 x 2, 1 / 3 x 2	0 / 0 x 13, 4 / 7, 5 / 5, 5 / 7, 5 / 9, 6 / 7, 7 / 11, 8 / 9, 10 / 8
N7	–	0 / 0 x 14, 1 / 2, 1 / 3 x 2, 2 / 2, 2 / 3, 2 / 4, 3 / 3 x 2, 4 / 5, 4 / 6, 5 / 7, 5 / 9, 6 / 7
N4	–	0 / 0 x 8, 1 / 2, 2 / 2 x 2, 2 / 4, 3 / 4, 3 / 5 x 2, 3 / 6, 3 / 7, 4 / 5 x 2, 4 / 7 x 2, 4 / 9, 5 / 5, 5 / 7 x 2, 6 / 7, 6 / 8, 6 / 9
P7	0 / 0 x 7, 1 / 1, 1 / 2 x 3, 2 / 2, 2 / 3, 2 / 4, 5 / 4	0 / 0 x 32, 2 / 4, 4 / 7, 8 / 14, 9 / 6, 9 / 8

Table II continued

Strain	Results from greenhouse L / W	Results from growth-chamber L / W
P4	0 / 0 x 10, 1 / 1 x 5, 1 / 2 x 5, 2 / 1 x 2, 2 / 2, 2 / 3, 2 / 4	0 / 0 x 30, 1 / 1, 1 / 2 x 3, 1 / 3 x 4, 2 / 3, 2 / 4 x 3, 3 / 1, 3 / 4 x 2, 3 / 5, 4 / 4 x 4, 4 / 5, 4 / 6, 5 / 9, 6 / 5, 7 / 4, 7 / 7, 7 / 10
P3	0 / 0 x 5, 1 / 1 x 2, 1 / 2 x 4, 1 / 3, 2 / 1	0 / 0 x 16, 1 / 2 x 5, 1 / 3 x 4, 2 / 3, 2 / 4, 3 / 3, 3 / 4
P8	0 / 0 x 5	0 / 0 x 6, 1 / 2, 1 / 3, 1 / 4 x 2, 2 / 3 x 4, 2 / 4 x 4, 2 / 6, 4 / 5 x 2, 5 / 4
P14	0 / 0 x 1, 1 / 1, 1 / 3 x 2, 2 / 1 x 2, 2 / 2, 2 / 3 x 3	—
P21	0 / 0 x 5, 1 / 1 x 4, 1 / 3, 2 / 5, 3 / 4, 4 / 4	0 / 0 x 10, 1 / 3, 2 / 3
P22	0 / 0 x 2, 1 / 2, 1 / 3 x 2, 2 / 2	0 / 0 x 18, 1 / 1, 1 / 4, 3 / 3, 3 / 4 x 2, 3 / 5, 4 / 6, 5 / 5, 5 / 6, 6 / 5

The results of pathogenicity trials are given in Table II. Each fraction L / W designates the size of one necrotic spot. The section of inoculated segments did not create any necrotic spot of bark tissue. The maximal values of indexes of severity on segments kept in the growth-chamber ($L_{\max} = 10$, $W_{\max} = 14$) were higher than in the greenhouse ($L_{\max} = 5$, $W_{\max} = 5$). The average of

III. Evaluation of pathogenicity trials

Conditions of culture	Growth-chamber	Greenhouse
Average of index of severity of spot length	3.5	1.6
Average of index of severity of spot width	4.82	2.26
Number of inoculations with necrotic spot	177	95
Number of inoculations without necrotic spot	247	104
Whole number of inoculations	424	199

indexes of severity were calculated on the base of L and W values and they are shown in Table III. The number $e = 1.9$ was calculated by subtraction of average spot length in greenhouse from that in growth-chamber. The number $i = 2.56$ was calculated by subtraction of the average of spot width in greenhouse from spot width in growth-chamber. Values e and i indicate the necrotic spots were largest in growth-chamber than in greenhouse. No necrotic spots formed in the checks.

DISCUSSION

It is possible that the ability of the fungus to cause larger bark tissue necrosis in a growth-chamber than in a greenhouse depends on the different conditions of the test, i.e. humidity, temperature and light, seasonal age of used branches. Our results are similar to those reported by Kastirr and Ficke (1984), who observed longer necrotic spots of bark in bags (35 mm) than in greenhouse (13 mm). The influence of the conditions of culture on the development of symptoms mentioned by Bloomberg (1962) and Bier (1959a, b, c, 1961a, b) is also confirmed by our results. The obtained results are not sufficient to support the opinion of Urban (1962), Tikhomirova (1992), Jones (1990) and Potlajčuk (1976).

Only 47.7% of inoculated segments incubated in a greenhouse and 41.7% of the those incubated in a growth-chamber were affected by necrosis of bark. Many factors may influence the origin of symptoms. They could occur during inoculation when the twigs were differently damaged by the knife, and the necrotic spots were caused only partly as the result of Stanová (1990).

The trials *in vitro* do not prove pathogenicity of the fungus but only its ability to cause necrotic spots. A response of the whole host plant to the fungus will be demonstrated in field trials.

CONCLUSION

The ability of *C. schulzeri* to create larger lesions of rot of bark in a growth-chamber than in a greenhouse was proved. Our results agreed with those reported by Kastirr and Ficke (1984), Bloomberg (1962) and Bier (1959a, b, c, 1961a, b) and indicate the influence of different conditions on the development of symptoms. Only part of the inoculated segments suffered from dieback of bark. Our results demonstrate the

ability of the fungus to cause necrosis of bark at condition *in vitro*. The pathogenicity of the fungus would be proven in trials in an orchard.

References

- BIER, J. E.: The relation of bark moisture to the development of canker diseases caused by native, facultative parasites I. *Cryptodiaporthe* canker on willow. Can. J. Bot., 37, 1959a: 229-238.
- BIER, J. E.: The relation of bark moisture to the development of canker diseases caused by native, facultative parasites. II. *Fusarium* canker on black cottonwood. Can. J. Bot., 37, 1959b: 781-788.
- BIER, J. E.: The relation of bark moisture to the development of canker diseases caused native, facultative parasites. III. *Cephalosporium* canker of western hemlock. Can. J. Bot., 37, 1959c: 1140-1142.
- BIER, J. E.: The relation of bark moisture to the development of canker disease caused by native, facultative parasites. IV. Pathogenicity studies of *Cryptodiaporthe salicella* (Fr.) Petrak and *Fusarium lateritium* Nees., *Populus trichocarpa* Torrey et Gray, *P. "robusta"*, *P. tremuloides* Michx., and *Salix* sp. Can. J. Bot., 39, 1961a: 139-144.
- BIER, J. E.: The relation of bark moisture to the development of canker diseases caused by native, facultative parasites. V. Rooting behaviour and disease vulnerability in cuttings of *Populus trichocarpa* Torrey et Gray, and *P. "robusta"*. Can. J. Bot., 39, 1961b: 145-154.
- BLOOMBERG, W. J.: Cytospora canker of poplars: factors influencing the development of the disease. Can. J. Bot., 40, 1962: 1272-1280.
- BORECKI, Z.-MILLIKAN, D. F.: A rapid method for determining the pathogenicity and factors associated with pathogenicity of *Phytophthora cactorum*. Phytopathology, 59, 1969: 247-248.
- DARBYSHIRE, B.-WADE, G. C.-MARSHALL, K. C.: *In vitro* studies of the role of nitrogen and sugars on the susceptibility of apple wood to decay by *Trametes versicolor*. Phytopathology, 59, 1969: 98-102.
- GVRITISHVILI, M. N.: Griby roda *Cytospora* Fr. v SSSR. Tbilisi, Izd. Sabchoza 1982: 214 p.
- JONES, A. L.: Leucostoma canker. In: JONES, A. L. - ALDWINCKLE, H. S.: Compendium of Apple and Pear Diseases. USA, 1990: 40-41.
- KASTIR, U.-FICKE, W.: *Cytospora personata* Fr.- ein bedeutender Rindenbranderreger am Apfel in der DDR. Arch. Phytopath. Pfl.-Schutz, 20, 1984: 383-399.
- POTLAJČUK, V. I.: Mikoznoje usychaniye plodovych kultur. Moskva, 1976: 239 p.
- STANOVÁ, M.: Vplyv poranenia na vnímavosť marhúľ na infekciu houbou *Cytospora cincta* Sacc. Biológia, 45, 1990: 15-22.

URBAN, Z.: Cytosporové odumírání jabloní. In: BENADA, J.- ŠPAČEK, J.: Zemědělská fytopatologie. IV. 1962: 216-218.

TIKHOMIROVA, I. N.: Mikromycety jabloni v Leningradskoj oblasti. Mikol. i Fitopat., 26, 1992 : 305-308.

Received for publication September 21, 1993

A. Blechtová (Výzkumný ústav rostlinné výroby, odbor rostlinolékařství,
Praha-Ruzyně, Česká republika)

**Příspěvek ke studiu patogenity *Cytospora schulzeri* Sacc. et Syd.
v podmínkách *in vitro***

Modifikovanými metodami byla studována schopnost druhu *Cytospora schulzeri* vztvářet nekrózy kůry na segmentech větvíček jabloní. Segmenty inokulované houbou, byly pěstovány v teplotně, vlhkostně a světelně rozdílných podmínkách – ve skleníku a v klimatizované komoře. Houba vytvářela větší nekrózy při pěstování v klimatizované komoře než ve skleníku. Z uvedených výsledků lze vyvozovat, že rozvoj symptomů, kromě vlastností kůry (B l o o m b e r g, 1962; Bier, 1959a, b, c, 1961a, b; K a s t i r r, F i c k e, 1984) mohou ovlivňovat teplotní, vlhkostní a světelné podmínky při pěstování. Dále bylo zjištěno, že pouze část inokulovaných segmentů projevilo symptomy nekrózy kůry. Konečné závěry o patogenitě houby nelze zatím vyvozovat, je však nutné dále sledovat její reakce v polních podmínkách.

nekrózy kůry jabloní; *Cytospora schulzeri*

STUPEŇ NÁCHYLNOSTI ODRÔD HRACHU K PRENOSU VÍRUSU MOZAIKOVÉHO ZVINOVANIA LISTOV HRACHU VOŠKAMI

Matúš JURÍK, Ján GALLO, Aleš LEBEDA¹

Virologický ústav SAV, 842 46 Bratislava, Slovenská republika;

¹SEMO, Šlechtitelská stanice zelenin, 798 17 Smržice, Česká republika

Určili sme stupeň náchylnosti 29 odrôd hrachu na infekciu vírusom mozaikového zvinovania listov hrachu (Pea seed-borne mosaic virus - PSbMV). Na prenos PSbMV sa použila voška *Acyrtosiphon pisum* (Harris). Výsledky pokusov ukázali, že testované odrody vykazujú rôzny stupeň náchylnosti voči PSbMV. Žiadna odroda nebola imúnna (nevnímavá) na infekciu. Najnižší stupeň náchylnosti voči tomuto vírusu vykazovali odrody Radovan, Triton, Solara, Tiny, Banff, Scout (4 až 10% náchylnosť). Naproti tomu odroda Bornella bola 100% náchylná na infekciu PSbMV.

vírus mozaikového zvinovania listov hrachu; rezistencia kultivarov hrachu; prenos voškami

Vírus mozaikového zvinovania listov hrachu (Pea seed-borne mosaic virus - PSbMV) predstavuje v podmienkach Slovenska, nebezpečenstvo pre pestovanie hrachu, šošovice, bôbu a iných strukovín. Je prenosný niekoľkými druhmi vošiek (*Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora*, *Myzus persicae* a i.) a semenom niektorých strukovín. Efektívnosť prenosu PSbMV semenom rôznych odrôd hrachu sa pohybuje v rozmedzí od 1 % až do 55 % (Kvíčala et al., 1973, Musil et al., 1981).

Najlepším ochranným opatrením pred infekciou rastlín PSbMV je pestovanie odrôd rezistentných, alebo aspoň takých, ktoré vykazujú vyšší stupeň odolnosti, resp. tolerancie proti PSbMV. Na túto problematiku sa sústredil záujem fytopatológov i šľachtiteľov u nás i v zahraničí (Hampton et al., 1976; Chico, Zimmer, 1978; Spaar, Kleinhempel, 1985; Musil, Jurík, 1990; Wang et al., 1993). V predošlej práci (Musil, Jurík, 1990) sme zistili, že pri určovaní stupňa náchylnosti odrôd hrachu proti PSbMV je vhodnejšie používať test, pri ktorom sú rastliny infikované

pomocou vošiek. Preskúšali sme širší sortiment odrôd hrachu na náchylnosť k PSbMV prenosom vírusu voškou *Acyrtosiphon pisum* (Harris).

MATERIÁL A METÓDY

Pri zisťovaní náchylnosti odrôd hrachu k infekcii PSbMV (izolát PsS₃ – Musil, 1966) sme vírus prenášali voškami *Acyrtosiphon pisum* – červená forma.

Stupeň náchylnosti hrachu na infekciu PSbMV sme zisťovali u 29 odrôd svetového sortimentu hrachu siateho. V päťkrát opakovaných pokusoch sme použili po 50 rastlín z každej odrody (10 rastlín v jednom pokuse).

Na jednotlivé odrody svetového sortimentu hrachu (tab. I) sme PSbMV prenášali skupinami vošiek (po 10 na jednu rastlinu), a to na 1 až 2 cm dlhé nadzemné výhonky, t.j. 6 až 7 dní po vysiatí semien. Doba nadobúdacieho cicania na zdroji vírusu bola 15 minút, doba testovacieho cicania bola 18 až 24 hodín. Po skončení testovacieho cicania boli rastliny ošetrené insekticídmi a prenesené do skleníka, kde boli pestované 4 až 5 týždňov.

Pokusy sme robili v skleníku s variabilnou teplotou (21 ± 3 °C). Po piatich týždňoch sme vizuálne vyhodnotili príznaky infekcie a určili percento chorých rastlín. Na základe pomeru chorých a zdravých rastlín sme určili stupeň náchylnosti testovaných odrôd voči infekcii PSbMV. Odrody sme zaradili podľa stupňa náchylnosti do šiestich skupín (I. až VI.).

Rastliny, ktoré nevykazovali príznaky infekcie, sme znova na indikátorových rastlinách testovali na prítomnosť PSbMV, aby sme vylúčili prítomnosť latentných infekcií. Na reinokuláciu sme použili odrodu hrachu Meteor. Súčasne sme v rastlinách overovali prítomnosť vírusového antigénu testom ELISA, postupom uvedeným v práci autorov Gallo a Musil (1988).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri prenose PSbMV na odrody hrachu sa infikovalo v kontrole (cv. Meteor) 100 % testovacích rastlín. Výsledky pokusov (tab. I) ukázali, že testované odrody vykazovali rôzny stupeň náchylnosti voči PSbMV. Z testovaných 29 odrôd nebola žiadna imúnna (nevnímavá) voči infekcii PSbMV. Orodu Bornella, ktorá vykazovala 100% náchylnosť na infekciu, sme zaradili do VI. skupiny (veľmi náchylné odrody). Naproti tomu do I. skupiny (veľmi odolné odrody) sme zaradili odrody Radovan, Triton, So-

lara, Tiny, Banff a Scout. Odrody Pion, Midget, Tessa, Avola, Early Thirty Days, Wawertop, Marx, Orcado, Bohdan, Bunny a Wawerex sme zaradili do II. skupiny odolných odrôd (75 až 90 % odolnosti). Odrody Wawerplus, Progetta, Boretta, Gloriosa, Remus a Amos sa javili ako stredne odolné (50 až 75 % odolnosti) a zaradili sme ich do III. skupiny. Odrody Bornita, Migella, Finale a Regina boli málo náchylné na infekciu (25 až 50 % odolnosti) a jedna odroda (Darfon) bola stredne náchylná na infekciu (10 až 25 % odolnosti), t.j. IV., resp. V. skupina.

I. Stupeň náchylnosti odrôd hrachu k prenosu PSbMV voškou *A. pisum* – Degree of sensitivity of pea varieties to PSbMV transmitted by the aphid *A. pisum*

Odroda ¹	1	2	3	Odroda	1	2	3
Radovan	2/50	4	I	Bunny 12/50	24		III
Triton	3/50	6		Wawerex	12/50	24	
Solara	4/50	8		Wawerplus	14/50	28	
Tiny	5/50	10		Progetta	17/50	34	
Banff	5/50	10		Boretta	23/50	46	
Scout	5/50	10	II	Gloriosa	25/50	50	IV
Pion	8/50	16		Remus	25/50	50	
Midget	8/50	16		Amos	25/50	50	
Tessa	8/50	16		Bornita	28/50	56	
Avola	10/50	20		Finale	30/50	60	
Early T.D.	10/50	20		Migella	35/50	70	V
Wawertop	11/50	22		Regina	37/50	74	
Marx	11/50	22		Darfon	39/50	78	
Orcado	11/50	22		Bornella	50/50	100	
Bohdan	11/50	22		Meteor (K)	50/50	100	VI

1 = počet infikovaných rastlín/počet testovaných rastlín v piatich pokusoch – number of infected plants/number of test. plants in five trials

2 = náchylnosť v % – sensitivity in %

3 = stupeň náchylnosti k PSbMV – degree of sensitivity to PSbMV

K = kontrola – control

Výsledky získané vizuálnym hodnotením príznakov infekcie, resp. latentných infekcií po reinokulácii infikovaných rastlín boli potvrdené dôkazom prítomnosti antigénu PSbMV v dvojitom sendvičovom imunoenzymatickom teste (DAS-ELISA).

Už skoršie sme zistili (Musil, Jurík, 1990), že pri použití mechanickej inokulácie vírusu vykazovali testované odrody rôzny stupeň náchylnosti na infekciu PSbMV. U dvoch odrôd (Záboj, Odeon) uvedení autori zistili určitý stupeň odolnosti. Predpoklad, že na zistenie stupňa odolnosti voči vírusovej infekcii je na infekciu rastlín vhodnejšie používať vektora (infekcia pomocou vošiek), sme potvrdili.

Schmidt et al. (1987) odporúčajú pri šľachtení na rezistenciu využiť vhodné rastliny zo svetového sortimentu hrachu. V našich pokusoch sme zistili, že v súčasnom svetovom sortimente hrachu existujú odrody, ktoré sú v rôznom stupni náchylné na infekciu PSbMV. V prípade, že nie sú známe imúnne odrody voči PSbMV, je pri zámernom šľachtení nových odolnejších a výnosnejších odrôd snaha využiť odrody, ktoré by boli v poľných podmienkach tolerantnejšie alebo menej náchylné na infekciu. Takto získané novošľachtence by bolo potrebné znova testovať na stupeň náchylnosti vo vzťahu k PSbMV. Znalosť stupňa náchylnosti odrôd hrachu s prihliadnutím na stupeň prenosu PSbMV semenom môže byť pri šľachtení jedným z kritérií pri voľbe východiskových zdrojov. V ďalších pokusoch budeme sledovať vzťah medzi stupňom náchylnosti a prenosom tohto vírusu semenom u jednotlivých odrôd hrachu.

PodĎakovanie

Ďakujeme RNDr. M. Musilovi za poskytnutie izolátu PSbMV.

Literatúra

- CHIKO, A. V. – ZIMMER, R. C.: Effect of pea seed-borne mosaic virus on two cultivars of field pea grown in Manitoba. *Can. J. Pl. Sci.*, 58, 1978: 1073-1080.
- GALLO, J. – MUSIL, M.: Use of enzyme immunosorbent assay for the determination of serological relationships between two comoviruses. *Acta virol.*, 32, 1988: 443-454.
- HAMPTON, R. O. – MINK, G. J. – HAMILTON, R. I. – KRAFT, J. M. – MUEHLBAUER, F. J.: Occurrence of pea seed-borne mosaic virus in North American pea breeding lines, and procedures for its elimination. *Pl. Dis. Repr.*, 60, 1976: 455-458.

KVÍČALA, B. A. – LEŠKOVÁ, O. – MUSIL, M.: Virus mozaikového svinování listů hrachu přenosný semenem v porostech luskovin v ČSSR. Ochr. Rostl., 9, 1973: 271-280.

MUSIL, M.: Über das Vorkommen des Blattrollens der Erbse in der Slowakei. Biológia (Bratislava), 21, 1966: 133-138.

MUSIL, M. – JURÍK, M.: Odolnost československého sortimentu hrachu a pelušky ke čtyřem významným virům luskovin v Československu. Ochr. Rostl., 26, 1990: 167-171.

MUSIL, M. – LEŠKOVÁ, O. – RAPI, J.: Vplyv niektorých faktorov na prenos vírusu mozaikového zvinovania listov hrachu semenom. Biológia (Bratislava), 36, 1981: 889-896.

SPAAR, D. – KLEINHEMPEL, M.: Bekämpfung von Viruskrankheiten der Kulturpflanzen. VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag 1985: 479.

SCHMIDT, H. E. – WEBER, L. – KEGLER, H.: Virusrezistenz bei Gemüsenkulturen. In: KEGLER, H. – KLEINHEMPEL, H.: Virusrezistenz der Pflanzen. Berlin, Akademie-Verlag 1987, 121-125.

WANG, O. – WOODS, R. D. – COCKBAIN, A. J. – MAULE, A. J. – BIDDLE, A. J.: The susceptibility of pea cultivars to pea seed-borne mosaic virus infection and virus seed transmission in the UK. Plant pathol., 42, 1993, 42-47.

Došlo 12. 10. 1993

M. Jurik, J. Gallo, A. Lebeda (Institute of Virology, SAS, Bratislava, Slovak Republic; SEMO, Vegetable breeding station, Smržice, Czech Republic)

Degree of sensitivity of pea varieties to aphid-transmitted pea seed-borne mosaic virus

The degree of sensitivity to infection by pea seed-borne mosaic virus (PSbMV) was determined in 29 pea varieties. The aphid *Acyrtosiphon pisum* (Harris) was used for PSbMV transmission. Infected plants were evaluated visually, and symptomless plants were re-tested on the variety Meteor for the presence of latent infection. The plants were also tested by DAS-ELISA for presence of virus antigen PSbMV. The tested varieties showed various degrees of sensitivity to PSbMV; none was immune to infection; the variety Bornella had 100% sensitivity to infection, while the lowest degree of sensitivity was observed in the varieties Radovan, Triton, Solara, Tiny, Banff, and Scout; the other varieties had various degree of intermediate sensitivity. Varieties with a low degree of sensitivity could be used as parents for breeding of new pea varieties.

pea seed-borne mosaic virus; resistance of pea cultivars; aphid transmission

XIII. ČESKÁ A SLOVENSKÁ KONFERENCE O OCHRANĚ ROSTLIN

Organizační výbor konference si dovoluje širší odborné veřejnosti oznámit, že Odbor rostlinolékařství Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Praze-Ruzyni, Agronomická fakulta Vysoké školy zemědělské v Praze-Suchdole, Oddělení fytopatologie Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Piešťanech a Katedra ochrany rostlin Vysoké školy poľnohospodárske v Nitre pořádají ve dnech 13. až 15. září 1994 v Praze XIII. Českou a Slovenskou konferenci o ochraně rostlin.

Konference se koná v areálu Fakulty tělesné výchovy a sportu UK (FTVS UK) v Praze 6-Veleslavíně, José Martího 31. Plenární zasedání konference se bude konat 13. 9. a budou na něm předneseny souhrnné referáty o stavu výzkumu na úseku rostlinolékařství v České a Slovenské republice a prezentovány vyžádané referáty, které přednesenou významní zahraniční odborníci.

14. a 15. 9. budou probíhat jednání v sekcích virologické a bakteriologické, mykologické, entomologické, herbologické a chemické a integrované ochrany rostlin.

Do areálu FTVS UK je spojení metrem (trasa A, konečná stanice Dejvická). Ze stanice metra je další spojení autobusem MHD č. 119 nebo tramvají č. 26 a 2, výstupní stanice KOOSPOL.

Účastníci konference budou ubytováni v hotelu Krystal (5 minut pěšky od areálu konference) nebo v koleji areálu FTVS (dvoulůžkové a čtyřlůžkové pokoje) a budou mít možnost celodenního stravování.

Organizační náklady a vydání sborníku budou hrazeny z vložného ve výši 900 Kč, které účastník zašle na účet: Komerční banka, Praha 6, č. ú. 1038-25 635-061/0100, variabilní symbol 325 25 spolu s přihláškou do 31. 3. 1994. Doktorandi a studenti vysokých škol uhradí částku 300 Kč. Studentům, kteří se budou podílet na organizaci konference, bude vložné prominuto.

Čeští a slovenští odborníci z výzkumných pracovišť a kontrolních ústavů byli požádáni o souhrny referátů v českém nebo slovenském jazyce s anglickým překladem do 3. 4. 1994. Odborníci a účastníci ze zemědělské praxe mohou vystoupit k problémům současné ochrany rostlin v rámci diskuse. Konference se zúčastní i některé obchodní firmy působící na úseku zajištění ochrany rostlin.

Přihlášku na konferenci spolu s potvrzením o zaplacení vložného a souhrny referátů zasílejte na adresu: Ing. Zdenka Martinková, CSc.

VÚRV ORL, Drnovská 507,

161 06 Praha 6-Ruzyně

(tel. 02 / 360 851-9, fax: 02 / 365 228)

Ing. Jaroslav Polák, DrSc.

ÚČINEK *IN VITRO* ENTOMOPATOGENNÍCH HUB *BEAUVERIA BASSIANA* (BALS.- CRIV.) VUILL. A *BEAUVERIA BRONGNIARTII* (SACC.) PETCH NA FYTOPATOGENNÍ HOUBY

Dáša VESELÝ, Dana KOUBOVÁ

Řemeslo, s. s. r. o., divize Biopreparáty, Tylišovská 1/722,
 160 00 Praha 6, Česká republika

Laboratorními testy byla zjištěna antagonistická účinnost dvou druhů rodu *Beauveria* proti některým fytopatogenním houbám. Druhy *B. bassiana* a zejména *B. brongniartii* rychle fruktifikovaly a vyvolávaly lýzi mycelia fytopatogenních hub, s nimiž byly společně kultivovány na agaru v podvojných kulturách. Kolonie obou druhů rodu *Beauveria* se rozrůstaly pod koloniemi nebo na koloniích těchto mikromycetů, vytvářely bohaté vzdušné mycelium, které aktivně vnikalo do porostu hostitele, nebo produkovaly do agaru látky, které vytvářely inhibiční zóny, přičemž druh *B. brongniartii* byl antagonisticky účinnější. Oba druhy rodu *Beauveria* byly antagonistické proti *Pythium ultimum* a *P. debaryanum*. Druh *P. irregulare* byl odolnější. Odolné byly také druhy *Phoma betae* a zejména *P. exigua* var. *foveata*. Také fytopatogen *Rhizoctonia solani* prokázal vysoký stupeň kompetice k oběma druhům rodu *Beauveria*, kdežto druh *Septoria nodorum* byl oběma antagonisty silně potlačen. V práci je diskutována možnost využití vlastností hub rodu *Beauveria* k regulaci výskytu některých fytopatogenních hub.

biologická regulace; *Beauveria* sp.; fytopatogenní houby

Již od poloviny minulého století je známo, že četné druhy hmyzu, např. mouchy, larvy chroustů a různé housenky, jsou napadány entomofágními houbami rodu *Beauveria*. Použití houby *B. bassiana* bylo dovedeno až k výrobě komerčních přípravků.

Druh *B. bassiana* je fakultativní, vysoce virulentní parazit hmyzu, vyskytující se jen zřídka na jiných živočiších (MacLeod, 1954) nebo na lidech (Kuru, 1931). Podobně i druh *B. brongniartii*, který je v přírodě méně hoj-

ný, se vyskytuje nejen na hmyzu, ale i ve spojitosti s teplokrevnými živočichy. Byl izolován také ze sliznice člověka (H o o g, 1972). Nověji bylo uvedeno, že druhy *B. alba* a *B. bassiana* jsou běžně známými původci hyalohyfomykóz u zvířat i u lidí (R i p p o n, 1987).

Velmi chudá je vědecká literatura, která pojednává o vlivu *Beauveria* sp. na fytopatogenní houby. Druh *B. bassiana* byl zařazen mezi fakultativní biotrofní mykoparazity. Jeden kmen *B. bassiana* potlačoval houbu *Phytophthora infestans*, což bylo spojeno s vytvořením inhibiční zóny do 5 mm a se střední aktivitou proteolytických fermentů. Jiný kmen *B. bassiana* potlačoval *Botrytis cinerea*, *Verticillium dahliae*, *Sphaceloma ampelinum* a *Puccinia graminis*. Tento kmen však nevytvářel inhibiční zóny a neprojevila se aktivita proteolytických fermentů (R u d a k o v, 1981).

Případná parazitická účinnost entomopatogenních hub proti houbám fytopatogenním může vést ke spekulativním úvahám o možném využití přípravků na bázi hub rodu *Beauveria* k biologické ochraně proti chorobám rostlin (V e s e l ý, 1983). Tím by jediný přípravek mohl působit současně proti dvěma zcela odlišným škodlivým činitelům: proti fytopatogenním houbám, které napadají kořeny vzcházejících rostlin, a proti některým živočišným škůdcům těchto rostlin.

Takový mikrobiální prostředek by mohl být modelem další generace biologických preparátů nového typu.

MATERIÁL A METODY

Antagonistická účinnost *in vitro* na vybraný soubor fytopatogenních mikromycetů byla sledována u druhů *Beauveria bassiana* (Bals. - Criv.) Vuill. a *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch.

V podvojných kulturách byli společně pěstováni:

antagonističtí mikromyceti: *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill.

Beauveria brongniartii (Sacc.) Petch

fytopatogenní mikromyceti: *Pythium ultimum* Trow

Pythium debaryanum sensu Middl. non Hesse

Pythium irregulare Buisman

Phoma betae Frank

Phoma exigua Desm. var. *foveata*

Rhizoctonia solani Kühn

Septoria nodorum (Berk.) Kühn

Stupeň inhibiční účinnosti obou antagonistů byl vyhodnocen podle modifikované metody Rudakova (0 – žádný vliv; 1 – slabé potlačení; 2 – silné potlačení; 3 – úplné zničení) (Rudakov, 1981).

K protilehlým okrajům Petriho misek s pevnou živnou půdou byl zaočkován blokem agaru ($\varnothing = 6$ mm) porostlým myceliem vždy jeden antagonistic-ký a jeden fytopatogenní mikromycet. Tím byl vytvořen základ pro růst obou hub v podvojně kultuře. V každé variantě bylo šest opakování (šest Petriho misek o průměru 100 mm). Kultivace všech podvojných kultur probíhala za laboratorní teploty na bramborovém agaru při pH 6,2. Průběh kultivace byl sledován celkem 40 dní, pak bylo provedeno celkové vyhodnocení. Denně až do ukončení kultivace byl sledován růst, případné přerůstání kolonií, lýze mycelia, tvorba zón inhibice, fruktifikace a další jevy.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Laboratorními pokusy byla zjištěna kompetitivní a inhibiční účinnost sledovaných druhů rodu *Beauveria* proti některým fytopatogenním houbám (tab. I). Zjištění vytváří předpoklady pro jejich případné využití k tomuto účelu.

I. Stupeň inhibiční účinnosti antagonistických druhů rodu *Beauveria* na základě vyhodnocení jejich společné kultivace s vybranými druhy fytopatogenních hub (hodnocení stupně inhibiční účinnosti – Rudakov, 1981) – Degree of inhibiting efficiency of antagonistic species of the genus *Beauveria* on the basis of assessment of their joint cultivation with some species of phytopathogenic fungi (assessment of the degree of inhibiting efficiency – Rudakov, 1981)

Antagonické druhy ¹	Hostitelské druhy ²						
	<i>Pythium ultimum</i>	<i>Pythium debaryanum</i>	<i>Pythium irregulare</i>	<i>Phoma betae</i>	<i>Phoma exigua</i> var. <i>foveata</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Septoria nodorum</i>
<i>Beauveria bassiana</i>	2	2	1	1	1	1	2
<i>Beauveria brongniartii</i>	3	3	2	2	1	2	3

¹ antagonistic species; ² host species

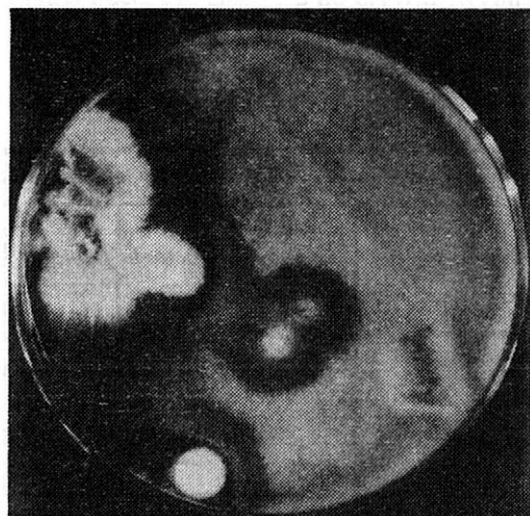
V testech na agarových plotnách bylo zjištěno, že druh *Pythium ultimum* porostl sice rychle většinu plochy agaru včetně kolonií *Beauveria bassiana*, ale kolonie této houby se pod jeho porostem rozrůstaly dále a nakonec porost *P. ultimum* lyzovaly do té míry, že se patogen udržel zbytky mycelia jen při okrajích Petriho misek. *Beauveria brongniartii* vytvářela hojně masy kolonií, které postupně (po 22 dnech společné kultivace) zcela vytlačily *P. ultimum* z plochy agaru.

Patogenní druh *P. debaryanum* byl lyzí kolonií *B. bassiana* téměř potlačen a zbylý porost se udržel jen při okrajích Petriho misek. *B. brongniartii* za 24 dní společné kultivace s *P. debaryanum* tuto fytopatogenní houbu zcela potlačila.

Druh *P. irregulare* byl houbou *B. bassiana* pouze omezen v růstu. V porovnání s *P. ultimum* a *P. debaryanum* byl druh *P. irregulare* k účinku antagonisty *B. brongniartii* více odolný.

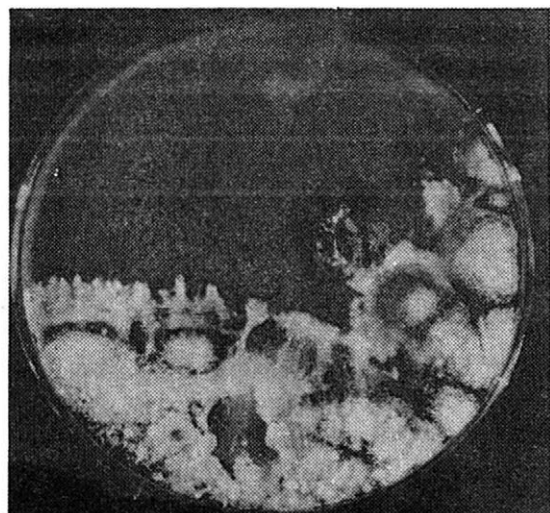
Houba *Phoma betae* se ukázala být proti *B. bassiana* odolná – antagonist při podvojně kultivaci vytvořil jen malý počet kolonií, mezi oběma sledovanými druhy se však vytvořila dobře patrná inhibiční zóna (obr. 1). *P. betae* se projevila jako poměrně odolná i proti účinku *B. brongniartii*, přestože ji tato houba ničila aktivním pronikáním vzdušného mycelia do jejího porostu v místech kontaktu obou hub a osídlováním povrchu mycelia, což bylo spojeno s lyzí fytopatogena (obr. 2).

Druh *P. exigua* var. *foveata* byl k účinku *B. bassiana* rovněž odolný. Mezi druhy *P. exigua* var. *foveata* a *B. brongniartii* se místy udržovala 3 až 4 mm



1. *Beauveria bassiana* (bílé mycelium vlevo) při společné kultivaci s *Phoma betae* (šedé mycelium vpravo) – *Beauveria bassiana* (white mycelium on left) at joint cultivation with *Phoma betae* (gray mycelium on right)

V myceliu *P. betae* a zejména v místě kontaktu obou hub je zřetelná inhibiční zóna – There is a clearly visible inhibiting zone in the mycelium *P. betae* and particularly at the spot of contact of both fungi

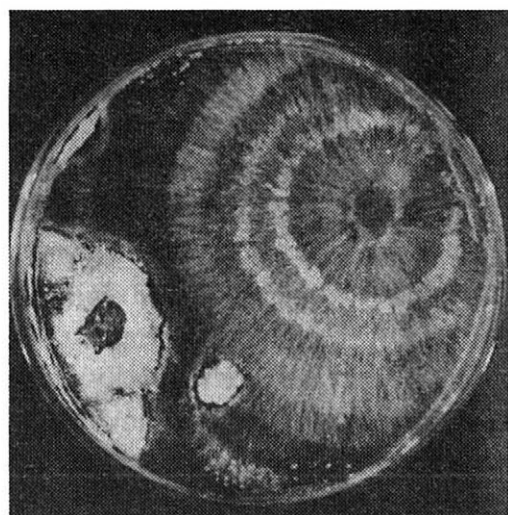


2. *Beauveria brongniartii* (bílé mycelium dole) při společné kultivaci s *Phoma betae* (šedé mycelium nahoře) – *Beauveria brongniartii* (white mycelium down) at joint cultivation with *Phoma betae* (gray mycelium up)

Zřetelné aktivní pronikání mycelia *B. brongniartii* do kolonie *P. betae* – Clearly visible growth on the mycelium *B. brongniartii* onto the colony of *P. betae*

široká inhibiční zóna. Celkově se však *P. exigua* var. *foveata* projevila jako odolná k účinku *B. brongniartii*.

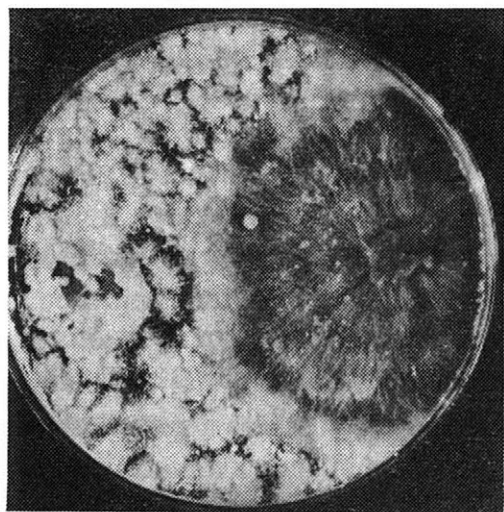
Patogenní druh *Rhizoctonia solani* byl vůči účinku antagonisty *B. bassiana* odolný a antagonist vytvořil jen malý počet kolonií (obr. 3). Při celkovém hodnocení se houba *R. solani* ukázala být proti účinku *B. brongniartii*



3. *Beauveria bassiana* (bílé mycelium vlevo) při společné kultivaci s *Rhizoctonia solani* (šedé mycelium vpravo) – *Beauveria bassiana* (white mycelium on left) at joint cultivation with *Rhizoctonia solani* (gray mycelium on right)

Mezi koloniemi obou druhů hub slabá, ± 2 mm široká inhibiční zóna. Četná sklerocia v porostu *R. solani* jsou uspořádána do soustředných kruhů kolem místa inokulace – There is a ± 2 mm wide inhibiting zone between the colonies of both fungal species, the zone is weakly visible. Numerous sclerotia in the growth of *R. solani* form concentric circles around the spot of inoculation

rovněž odolná. Antagonista však vytvořil značné množství následných kolonií, které *R. solani* omezily v růstu (obr. 4). V podvojné kultuře *R. solani* s *B. bassiana* byla sklerocia houby *R. solani* uspořádána v soustředných kruzích (obr. 3), kdežto při kultivaci s *B. brongniartii* se sklerocia vytvářela roztroušeně, zejména však v místě kontaktu obou hub na okraji porostů v hustém myceliu (obr. 4). V porostu *R. solani* se vytvářely nové kolonie *B. brongniartii* (obr. 4).



4. *Beauveria brongniartii* (bílé mycelium vlevo) při společné kultivaci s *Rhizoctonia solani* (šedé mycelium vpravo) – *Beauveria bassiana* (white mycelium down) at joint cultivation with *Rhizoctonia solani* (gray mycelium up)

Značné množství kolonií *B. brongniartii* silně omezilo růst *R. solani*. Sklerocia *R. solani* se tvořila roztroušeně, zejména při okraji porostu v místě kontaktu s koloniemi *B. brongniartii* – A large number of colonies of *B. brongniartii* strongly reduced the growth of *R. solani*. *R. solani* clerotia were dispersed – particularly along the margin of the growth at the spot of contact with the colonies of *B. brongniartii*

Patogen *Septoria nodorum* nebyl příliš odolný vůči antagonistovi *B. bassiana*, který produkoval menší počet kolonií, z nichž některé vyrůstaly přímo v porostu *S. nodorum*. Podobně i druh *B. brongniartii* hojně osídloval kolonie patogena *S. nodorum*. Postupně byl růst *S. nodorum* zastaven a celý povrch kolonií této houby porostl koloniemi *B. brongniartii*.

Celkově bylo prokázáno, že oba druhy rodu *Beauveria* byly účinné proti *P. ultimum* a *P. debaryanum*. *P. irregulare* bylo proti účinku obou druhů rodu *Beauveria* odolnější. Sledované druhy rodu *Phoma*, zejména však *P. exigua* var. *foveata*, byly k *Beauveria* sp. odolné. Druh *Rhizoctonia solani*, který patří k silným kompetitivním houbám a je rovněž mykoparazit,em,

byl k oběma druhům rodu *Beauveria* poměrně odolný. Za povšimnutí stojí také dobrá účinnost *Beauveria* sp. proti houbě *Septoria nodorum*.

Testy na agarových plotnách s oběma entomofágními houbami *B. bassiana* a *B. brongniartii* bylo zjištěno, že *B. brongniartii* má na sledované fytopatogenní houby výraznější inhibiční účinek než *B. bassiana*.

Skutečnost, že druhy rodu *Beauveria* se vyskytují v půdě a snášejí široké rozmezí teplot, je velmi příznivá pro případný záměr využít je k biologické regulaci výskytu fytopatogenních hub, které pocházejí ze stejného ekosystému, tedy proti chorobám kořenů rostlin.

Literatura

HOOG, G. S. de: The genera *Beauveria*, *Isaria*, *Tritirachium* and *Acrodonium* gen. nov. Stud. Mycol., 1, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, 1972: 1-41.

KURU, M.: Über einen neuen pathogenen Schimmelpilz, „*Isaria shioteae* nov. spec.“ von einem pseudoxanthomatosen Herde des Menschen kultiviert. Jap. J. med. Sci. Trans. Abstr., Ser. 9, 2, 1931: 327-358. In: HOOG, G. S. de: The genera *Beauveria*, *Isaria*, *Tritirachium* and *Acrodonium* gen. nov. Stud. Mycol., 1, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, 1972: 1-41.

MacLEOD, D. M.: Investigations on the genera *Beauveria* Vuill. and *Tritirachium* Limber. Can. J. Bot., 32, 1954: 818-890. In: HOOG, G. S. de: The genera *Beauveria*, *Isaria*, *Tritirachium* and *Acrodonium* gen. nov. Stud. Mycol., 1, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, 1972: 1-41.

RIPPON, J. W.: Symposium on medical mycology. The new opportunistic fungal infection: Fear of fungi. Mycopathologia, 99, 1987: 143-146.

RUDAKOV, O. L.: Mikofylnye griby, ich biologiya i praktičeskoe značenie. Izdatelstvo Nauka, Moskva, 1981: 1-159.

VESELÝ, D.: Prostředek k ochraně vzcházejících rostlin řepy cukrové proti spále, 1983. Úřad pro vynálezy a objevy v Praze. AO 243609, 1988.

VESELÝ, D.: Vztahy mezi doprovodnou a fytopatogenní mykoflórą z rhizosféry vzcházející řepy cukrové. Ochr. Rostl., 22, 1986: 109-118.

Došlo 20. 12. 1993

D. Veselý, D. Koubová (Řemeslo, s. s. r. o. – Division Biopreparáty,
Praha, Czech Republic)

***In vitro* effect of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.)
Vuill. and *B. brongniartii* (Sacc.) Petch on phytopathogenic fungi**

Laboratory tests revealed antagonistic effects of two species of the genus *Beauveria* against some phytopathogenic fungi. The species *B. bassiana* and particularly *B. brongniartii* quickly fructified and induced lysis of the mycelium of phytopathogenic fungi with which they were jointly cultured on agar in double cultures. The colonies of both species of the genus *Beauveria* were going under or on the colonies of these micromycetes, they formed an extensive aerial mycelium which actively penetrated into the growth of the host, or they produced substances that resulted in inhibitory zones. The species *B. brongniartii* was antagonistically more efficient. Both species were antagonistic to *Pythium ultimum* and *P. debaryanum*, while *P. irregulare* was more resistant. *Phoma betae* and particularly *P. exigua* var. *foveata* were also resistant. While *Rhizoctonia solani* was tolerant to both species of *Beauveria*, the species *Septoria nodorum* was strongly suppressed by the antagonism of both species. The use of the antagonistic properties of fungi of the genus *Beauveria* for the control of some phytopathogenic fungi is discussed.

biological control; *Beauveria* sp.; phytopathogenic fungi

ÚČINKY APLIKACE BOVEROLU (*BEAUVERIA BASSIANA*) NA PŮDNÍ HLÍSTICE (*NEMATODA*) ÚHORU

Ladislav HÁNĚL

Ústav půdní biologie AV ČR, Na sádkách 7, 370 05 České Budějovice,
Česká republika

Studie pojednává o účincích biopesticidu Boverol (aktivní složka konidie *Beauveria bassiana*) na společenstvo půdních hlístic úhoru. Aplikace přípravku neměla vliv na celkovou diverzitu společenstva ani na její sezonní vývoj. Abundance hlístic signifikantně vzrostla půl roku po aplikaci Boverolu a potom opět klesla na kontrolní hodnotu. Stimulace populačních hustot byla pozorována hlavně u bakteriofágních a fytofágních druhů.

půdní *Nematoda*; *Beauveria bassiana*; sezonní změny

Aplikace chemických pesticidů se stala důležitým prostředkem ochrany rostlin. Tyto látky však mají nežádoucí vedlejší účinky. Jednak po nich v pěstovaných plodinách a v půdě zůstávají rezidua, jednak mohou nepříznivě ovlivnit další organismy, které se škůdcem („target organism“) sdílejí společný ekosystém. Ekologické zemědělství se proto v boji se škůdci snaží využít jejich přirozené predátory, parazity nebo choroby.

Mezi biopesticidy patří i Boverol obsahující houbu *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., která parazituje na hmyzu, není ale parazitem hlístic (Dowe, 1987). Optimální biopesticid by po aplikaci v ekosystému neměl ovlivňovat necílové organismy. Studie se zabývá otázkou, zda lze tento předpoklad přijmout za platnou hypotézu pro vztah Boverol (*B. bassiana*) – společenstvo půdních hlístic.

MATERIÁL A METODY

Pokus za účelem zjištění vlivu Boverolu na půdní faunu byl proveden na 13 let starém, chemicky neošetřovaném úhoru s dominantními bylinami *Holcus mollis* L., *Hypericum perforatum* L., *Gallium album* L., *Holcus lanatus* L. a *Poa angustifolia* L. na hnědé půdě (entric cambisol, forma humusu mull,

pH/H₂O = 5,9) v jižních Čechách u obce Chelčice (osada Dlouhá Ves), 49° 06' šířky a 14° 07' délky. Na úhoru byly vytyčeny dvě plochy 10 x 10 m a na jedné z nich byl 21. 6. 1988 proveden postřik Boverolem v dávce 7 kg/ha (suspenze v 5 l vody). Na kontrolní plochu bylo aplikováno pouze 5 l vody. Aplikovaný preparát byl vyroben v lednu 1988 ACHP Milevsko a měl parametry: titr $1,8 \cdot 10^{10}$ konidií na 1 g *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., klíčivost 86 %, $LC_{50} = 7,5 \cdot 10^8$ konidií na 1 g. Celkem bylo provedeno šest odběrů hlístic (7. 6. 1988, 12. 7. 1988, 6. 9. 1988, 10. 1. 1989, 10. 4. 1989, 3. 7. 1989), z každé plochy bylo odebíráno 10 vzorků půdy sondou o účinné ploše 1 cm² do hloubky 10 cm.

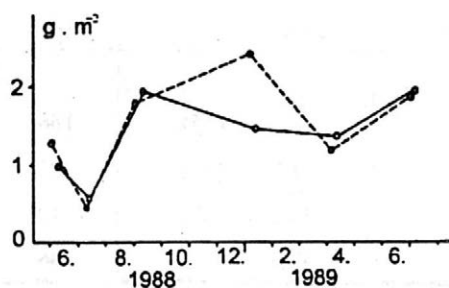
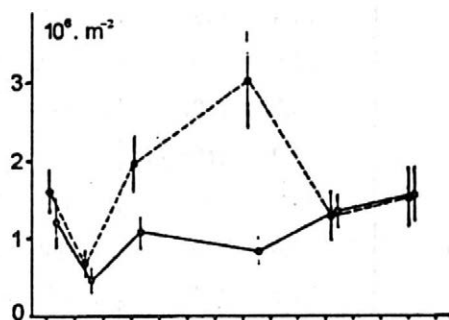
Izolace hlístic z půdy byla provedena modifikovanou metodou Baermanových nálevek, expozice 24 h, živočichové byli fixováni roztokem FAA a studováni v glycerinových preparátech (Šálý, 1983). Rozdělení hlístic do trofických skupin bylo provedeno metodou, kterou uveřejnila Wasilewska (1971), s modifikacemi autorů Yeates et al. (1993). Pro statistické vyhodnocení rozdílů průměrných hodnot abundance byly použity konfidenční intervaly, $P = 0,05$. Shannon-Wienerův index $H' = -\sum p_i \ln p_i$ druhové ($H'spp$) a rodové ($H'gen$) diverzity byl počítán s použitím přirozených logaritmů. Pro vyhodnocení podobnosti společenstva hlístic na studovaných plochách v jednotlivých termínech byly využity: aglomerativní shluková analýza, data abundance rodů hlístic, míra nepodobnosti Euklidovská vzdálenost, shlukovací metoda Group Average, program CLUSTAN (Wishart, 1981).

Kromě společenstva hlístic byla studována také abundance půdních vířníků (*Rotatoria*), želvušek (*Tardigrada*) a roupic (*Enchytraeidae*). Pro odběr půdních vzorků a izolaci těchto skupin byly použity stejné metody jako u hlístic. Studijní materiál čítal okolo 16 600 jedinců hlístic a 770 jedinců ostatních půdních živočichů.

VÝSLEDKY

Na kontrolní ploše bylo zjištěno celkem 81 druhů hlístic a na ošetřené ploše 78 druhů. Dominantními druhy byly *Plectus acuminatus* Bastian, 1865 (12,0 % na kontrole; 9,6 % na ošetřené ploše), *Acroboloides nanus* (de Man, 1880) (9,2 %; 11,9 %), *Panagrolaimus rigidus* (Schneider, 1866) (5,8 %; 3,7 %), *Rhabditis maupasi* Seurat, 1919 group (5,4 %; 5,2 %), *Filenchus vulgaris* (Brzeski, 1963) (9,4 %; 13,2 %), *Aporcelaimellus* spp. (8,3 %;

5, 2 %) a *Pungentus thornei* Goodey, 1943 (8,4 %; 5,3 %). Shannon-Wienerův index ani jeho sezonní změny neukázaly závažné rozdíly v diverzitě společenstva hlístic studovaných ploch. Průměrná abundance i biomasa celého společenstva byly vyšší na ošetřené ploše než na ploše kontrolní (tab I). Ke zvýšení průměrné abundance došlo u velkého počtu rodů hlístic, s výjimkou rodů *Cylindrolaimus*, *Tylocephalus*, *Panagrolaimus*, *Paraphelenchus*, *Tylenchus*, *Malenchus*, *Rotylenchus*, *Heterodera*, *Paratylenchus*, *Deladenus*, *Nygolaimus*, *Mesodorylaimus*, *Pungentus*, *Dorylaimellus*, *Diphtherophora*, *Tripyla* a *Anatonchus*. Průměrná abundance fytofágních a bakteriofágních hlístic byla vyšší na ploše ošetřené Boverolem než na ploše kontrolní, zatímco abundance mykofágních, omnifágních a dravých hlístic zůstala téměř nezměněna (tab. I). U dravých hlístic došlo k poměrně výraznému poklesu abundance rodu *Tripyla* a naopak k nárůstu abundance rodu *Clarkus*. Tyto změny byly pravděpodobně důsledkem změn v abundanci bakteriofágních a fytofágních druhů, kterými se tyto dravé hlístice živí. Nejvyšší relativní zvýšení abundance na Boverolem ošetřené ploše (na 838 % kontrolních hodnot) bylo zjištěno u nedospělých jedinců hlístic (podobných invazním larvám čeledi *Steinernematidae*) označených v tab. I termínem *dauer larvae*. K určitému nárůstu abundance těchto hlístic na Boverolem ošetřené ploše došlo již v červenci 1988, ale signifikantně vyšší hodnota ($24 \cdot 10^3$ ind. na 1 m^2) byla zjištěna až v červenci 1989.



1. Změny abundance a biomasy půdních hlístic na kontrolní (—) a Boverolem ošetřené (---) ploše; konfidenční intervaly ($P = 0,05$) – Changes in the abundance and the biomass of soil nematodes in control (—) and Boverol treated (---) plots; confidence limits ($P = 0.05$)

I. Průměrná abundance (10^3 ind. na 1 m^2) rodů hlístic na kontrolní a Boverolem ošetřené ploše, frekvence výskytu rodů (%) je uvedena v závorkách, – Mean abundance (10^3 ind. per m^2) of the nematode genera in control and Boverol treated plots, frequency of genera occurrence (%) is given in parentheses

	Kontrola ¹		Boverol		B%K
BAKTERIOFÁGOVÉ ²					
<i>Eumonhystera</i>	3,5	(25)	14,5	(42)	414
<i>Geomonhystera</i>	8,0	(33)	17,8	(52)	223
<i>Cylindrolaimus</i>	0,2	(2)	—	—	0
<i>Anaplectus</i>	4,3	(33)	16,3	(55)	379
<i>Plectus</i>	154,0	(100)	215,0	(100)	140
<i>Ceratoplectus</i>	2,3	(10)	3,8	(22)	165
<i>Tylocephalus</i>	3,3	(12)	3,3	(17)	100
<i>Metateratocephalus</i>	0,3	(3)	1,8	(10)	600
<i>Heterocephalobus</i>	24,8	(73)	65,3	(93)	263
<i>Cephalobus</i>	30,2	(82)	35,3	(95)	117
<i>Eucephalobus</i>	4,5	(28)	29,7	(63)	660
<i>Acrobeloides</i>	110,7	(90)	198,5	(97)	179
<i>Cervidelus</i>	—	—	0,2	(2)	—
<i>Panagrolaimus</i>	56,8	(73)	49,3	(82)	87
<i>Bursilla</i>	11,5	(40)	15,5	(52)	135
<i>Rhabditis</i>	60,7	(90)	85,0	(95)	140
<i>Daeur larvae</i> **	0,8	(5)	6,7	(18)	838
<i>Diplogaster</i>	—	—	1,2	(10)	—
<i>Bastiania</i>	5,3	(32)	12,7	(47)	240
<i>Prismatolaimus</i>	1,0	(8)	2,0	(10)	200
<i>Alaimus</i>	18,3	(67)	31,5	(82)	172
<i>Amphidelus</i>	1,8	(8)	4,3	(22)	239
Σ	502,3		809,7		161
MYKOFÁGOVÉ ³					
<i>Aphelenchus</i>	7,5	(33)	11,7	(55)	156
<i>Paraphelenchus</i>	6,0	(28)	1,3	(12)	22
<i>Aphelenchoides</i>	31,2	(65)	34,2	(83)	110
Σ	44,7		47,2		106

	Kontrola ¹		Boverol		B%K
FYTOFÁGOVÉ ⁴					
<i>Tylenchus</i>	0,3	(2)	0,3	(3)	100
<i>Filenchus</i> *	138,5	(93)	277,0	(100)	200
<i>Aglenchus</i>	—	—	4,0	(13)	—
<i>Coslenchus</i>	2,5	(20)	13,8	(55)	552
<i>Boleodorus</i>	0,8	(7)	1,7	(8)	213
<i>Malenchus</i> *	0,3	(3)	—	—	0
<i>Lelenchus</i> *	—	—	0,3	(3)	—
<i>Psilenchus</i>	2,0	(3)	2,3	(10)	115
<i>Tylenchorhynchus</i>	10,5	(40)	28,0	(48)	267
<i>Helicotylenchus</i>	11,0	(42)	65,7	(72)	597
<i>Rotylenchus</i>	1,0	(7)	—	—	0
<i>Pratylenchus</i>	10,2	(43)	24,8	(67)	243
<i>Heterodera</i> (larvy ⁵)	2,0	(5)	—	—	0
<i>Paratylenchus</i>	18,5	(30)	9,8	(18)	53
<i>Macroposthonia</i>	2,2	(15)	5,8	(28)	264
<i>Ditylenchus</i> *	35,0	(65)	69,5	(92)	199
<i>Deladenus</i> *	0,2	(2)	—	—	0
Σ	235,0		503,0		214
OMNIFÁGOVÉ ⁶					
<i>Nygolaimus</i>	0,7	(5)	0,2	(2)	29
<i>Mesodorylaimus</i>	9,0	(33)	7,8	(28)	87
<i>Eudorylaimus</i>	9,5	(50)	10,2	(50)	107
<i>Aporcelaimellus</i>	88,0	(100)	90,5	(98)	103
<i>Aporcelaimus</i>	—		0,5	(5)	—
<i>Pungentus</i>	92,3	(92)	92,8	(95)	101
<i>Axonchium</i>	26,3	(73)	35,5	(82)	135
<i>Dorylaimellus</i>	0,5	(5)	0,5	(5)	100
<i>Tylencholaimellus</i>	8,2	(37)	18,0	(48)	220
<i>Diphtherophora</i>	5,0	(27)	5,0	(32)	100
Jiné ⁷	0,2	(2)	—	—	0
Σ	239,7		261,0		109

Pokračování tab. I - Continuation of Table I

	Kontrola ¹	Boverol	B%K
DRAVCI⁸			
<i>Tripyla</i>	24,5 (70)	8,7 (38)	36
<i>Tobrilus</i>	— —	0,2 (2)	—
<i>Clarkus</i>	15,8 (73)	32,0 (78)	203
<i>Prionchulus</i>	20,0 (52)	22,3 (72)	112
<i>Anatonchus</i>	2,8 (18)	0,8 (7)	29
Σ	63,1	64,0	101
Celková abundance ⁹	1084,8 ± 220,0	1684,9 ± 450,0	155
Procento dospělých jedinců ¹⁰	31,3	29,2	—
Celková biomasa ¹¹ (g/m ²)	1,37 ± 0,31	1,50 ± 0,38	110
Průměrná biomasa jedince ¹² (μg)	1,29 ± 0,23	0,89 ± 0,11	69
Počet druhů ¹³	81	78	96
<i>H'spp</i>	3,11	3,16	—
Počet rodů ¹⁴	52	52	100
<i>H'gen</i>	3,01	3,04	—

* některé druhy rodu mohou být mykofágní – some species in the genus can be mycophagous

** hlístice podobné invazním larvám čeledi Steinernematidae – nematodes similar to invasive larvae of the family Steinernematidae

konfidenční intervaly ($P = 0,05$) – confidence limits ($P = 0.05$)

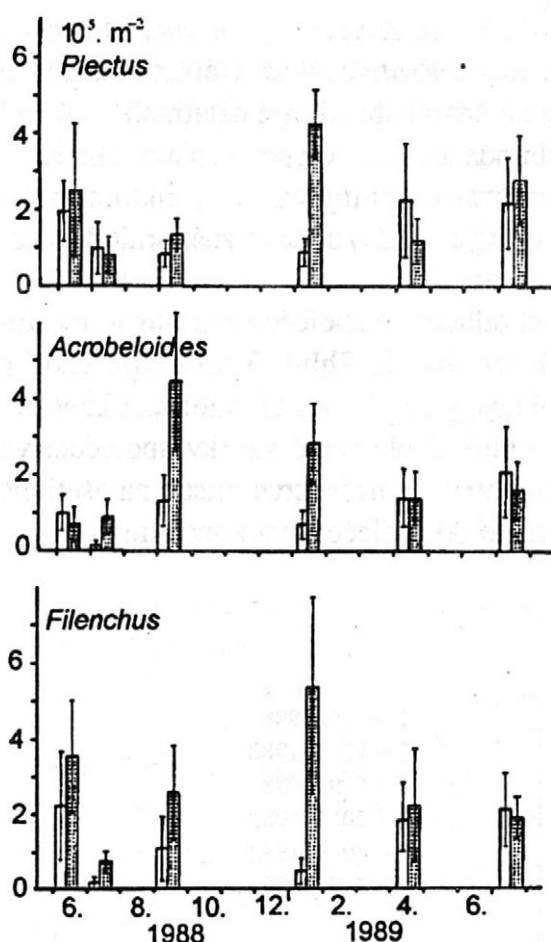
B%K = abundance, biomasa, počet druhů a rodů hlístic na Boverolem ošetřené ploše vyjádřené v procentu kontrolních hodnot – abundance, biomass, number of species and genera of nematodes in Boverol treated plot expressed in the percentage of control values

¹control; ²bacteriphages; ³mycophages; ⁴phytophages; ⁵larvae; ⁶omniphages; ⁷others; ⁸predators; ⁹total abundance; ¹⁰percentage of adult specimens; ¹¹total biomass; ¹²mean biomass of individual; ¹³number of species; ¹⁴number of genera

V tab. I je rovněž uvedena informace o frekvenci výskytu jednotlivých rodů hlístic na studovaných plochách. Na Boverolem ošetřené ploše došlo ke zvýšení frekvence výskytu u většiny rodů, nejvíce u *Eucephalobus*, *Coslenchus*, *Helicotylenchus* a *Ditylenchus*. U rodu *Tripyla* bylo naopak zjištěno podstatné snížení frekvence výskytu na Boverolem ošetřené ploše (o 32 %).

Prudké zvýšení celkové abundance hlístic (statisticky významné ve srovnání s kontrolou) bylo zaznamenáno v září 1988 a v lednu 1989 (obr. 1);

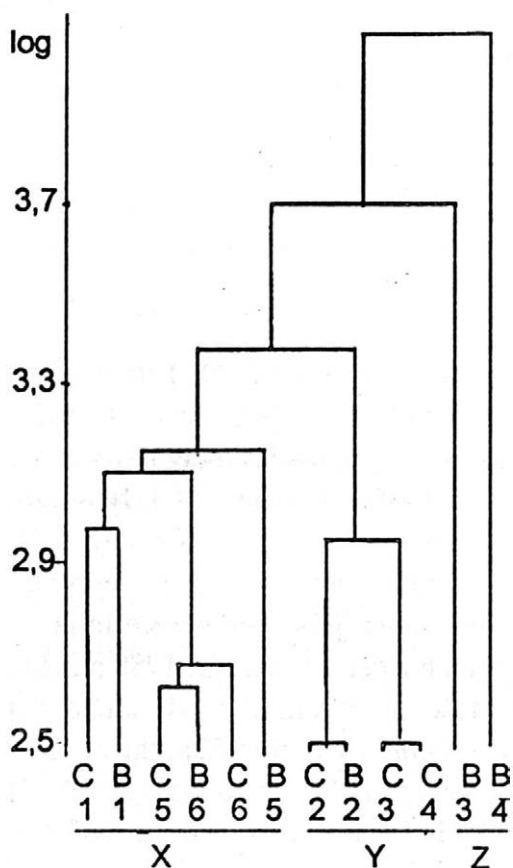
2. Změny abundance rodů *Plectus*, *Acrobeloides* a *Filenchus* na kontrolní (bílé sloupce) a Boverolem ošetřené (tečkované sloupce) ploše; konfidenční intervaly ($P = 0,05$) – Changes in the abundance of the genera *Plectus*, *Acrobeloides* and *Filenchus* in control (white bars) and Boverol treated (dotted bars) plots; confidence limits ($P = 0.05$)



u biomasy byl podobný nárůst pozorován pouze v lednu 1989. Toto zvýšení abundance bylo především důsledkem vysokých populačních hustot fytofágních a bakteriofágních druhů (tab. I); bakteriofágní hlístice měly na ošetřené ploše signifikantně vyšší abundanci v září 1988 a v lednu 1989, fytofágní hlístice v lednu 1989. Změny abundance tří nejvýznamněji zastoupených rodů (*Plectus*, *Acrobeloides*, *Filenchus*) jsou znázorněny na obr. 2. Nejvýraznější změny byly zjištěny u rodu *Acrobeloides*; jeho abundance byla na ošetřené ploše signifikantně vyšší v odběrech z července a září 1988 a ledna 1989. Rod *Filenchus* měl na ošetřené ploše signifikantně vyšší abundanci v červenci 1988 a lednu 1989, u rodu *Plectus* bylo signifikantní zvýšení abundance zjištěno v lednu 1989. Signifikantně vyšší abundance ($P = 0,05$) na Boverolem ošetřené ploše v lednu 1989 byla také pozorována u rodů *Eu-*

monhystera, *Ceratoplectus*, *Eucephalobus*, *Heterocephalobus*, *Alaimus*, *Bastiania*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus* a *Pratylenchus*. Nárůst abundance těchto rodů spolu s méně výraznými změnami abundance ostatních rodů měl za následek signifikantní zvýšení abundance celého společenstva hlístic na ošetřené ploše v lednu 1989. Změny se zároveň projevíly ve struktuře společenstva (poměrném zastoupení jednotlivých rodů) a lze je znázornit dendrogramem shlukové analýzy.

Na obr. 3 je znázorněna podobnost odběrů ze společenstva hlístic na studovaných plochách v jednotlivých termínech. Shluk X zahrnuje vzorky z obou ploch na začátku a konci pokusu, shluk Y ostatní vzorky z kontroly a jeden vzorek z ošetřené plochy. Shluk Z obsahuje vzorky společenstva z ošetřené plochy v září 1988 a lednu 1989; společenstvo hlístic na ošetřené ploše se v tomto období významně lišilo od společenstva kontrolního.



- 1 - 7. 6. 1988
- 2 - 12. 7. 1988
- 3 - 6. 9. 1988
- 4 - 10. 1. 1989
- 5 - 10. 4. 1989
- 6 - 3. 7. 1989

3. Shluková analýza společenstva hlístic na kontrolní (C) a Boverolem ošetřené (B) ploše - Cluster analysis of nematode community in control (C) and Boverol treated (B) plots

II. Průměrná abundance (10^3 ind. na 1 m^2) vířníků (*Rotatoria*), želvušek (*Tardigrada*) a roupic (*Enchytraeidae*) na kontrolní a Boverolem ošetřené ploše, $\pm$ konfidenční intervaly ($P = 0,05$) – Mean abundance (10^3 ind. per 1 m^2) of *Rotatoria*, *Tardigrada* and *Enchytraeidae* in control and Boverol treated plots, $\pm$ confidence limits ($P = 0.05$)

	Kontrola ¹	Boverol
Rotatoria	10,8 $\pm$ 7,0	14,2 $\pm$ 12,7
Tardigrada	31,0 $\pm$ 10,9	55,7 $\pm$ 35,2
Enchytraeidae	6,8 $\pm$ 3,4	10,0 $\pm$ 5,4

¹ control

DISKUSE

Z výsledků vyplývá, že aplikace Boverolu vyvolala ve společenstvu hlístic změny, které nelze vysvětlit jeho přirozenou proměnlivostí. Dále lze usuzovat, že aplikace stimulovala rozvoj společenstva nepřímo, protože nebyl pozorován nárůst abundance obligátních mykofágů. Nárůst abundance bakteriofágů je možné vysvětlit změnami ve společenstvu mikroorganismů a nárůst abundance fytofágů větším objemem dostupné potravy. Celkově nebylo společenstvo hlístic poškozeno – nedošlo k redukci abundance omnifágních a dravých druhů, které jsou indikátory jeho narušení (Wasiłewska, 1989), nelze ale říci, že zůstalo neolivněno. Nárůst fytofágních hlístic je možné vysvětlit několika způsoby:

1. Boverol vyhubil fytofágní hmyz (část), zůstalo tedy více potravy pro hlístice.
2. Boverol vyhubil hmyz a uvolněné živiny stimulovaly rostlinnou produkci.
3. Boverol ovlivnil půdní mikroflóru (volně žijící, symbiotickou) a dostupnost živin pro rostliny.

Aplikace přípravku ovlivnila i některé další skupiny půdní fauny. Z výsledků uvedených v tab. II vyplývá, že na ošetřené ploše došlo k mírnému nárůstu abundance půdních vířníků, roupic i želvušek. V odběru z 10. 1. 1989 byla abundance vířníků devětkrát a želvušek pětkrát vyšší na ošetřené ploše než na ploše kontrolní. Pižl (1993) nezjistil významný vliv Boverolu na žížaly a Tajovský (ústní sdělení) nepozoroval ovlivnění populací mnohonožek a suchozemských stejnonožců. Boverol tedy pravděpodobně

nemá vliv na necílovou půdní makrofaunu, zatímco některé skupiny půdní mezo- a mikrofauny mohou na jeho aplikaci silně reagovat. Mimo ovlivnění potravních vztahů v půdě lze uvažovat i o dalším mechanismu, který by se mohl podílet na zvýšení abundance hlístic. Houba *B. bassiana* je schopna rozkládat chitin, s vyšší mortalitou hmyzu lze předpokládat i stimulaci aktivity další chitinolytické mikroflóry. Působením chitináz mohlo dojít k částečné hydrolýze chitinové vrstvy vajíček hlístic, k stimulaci líhnutí larev a ke zvýšení abundance některých populací hlístic. Podobný mechanismus popisují např. Wharton (1986) a Mercer et al. (1992).

Z hlediska ochrany rostlin je zjištění stimulace fytofágních hlístic Boverolem významnou skutečností. Vyloučení jedné skupiny fytofágů z trofické sítě ekosystému může vést ke „kompenzaci“ spotřeby příslušného podílu primární produkce jinou skupinou fytofágů a biologický prostředek ochrany rostlin se může jevit jako zdánlivě neúčinný. Zajímavé může být i zvýšení abundance taxonu označeného termínem *dauer larvae* (tab. I). Jednalo se o nedospělé hlístice podobné invazním larvám čeledi Steinernematidae (Poinar, 1986), které napadají hmyz, infikují napadené jedince symbiotickými bakteriemi *Xenorhabdus* spp. a živí se rozloženou tkání hmyzího hostitele a namnoženými bakteriemi (Weiser a Mráček, 1988). Nelze vyloučit, že hmyz oslabený účinky Boverolu je náchylnější k parazitárním onemocněním, která způsobují některé hlístice. V podmínkách diskutovaného experimentu nebylo možné tuto problematiku podrobněji studovat, ale pokus se současnou aplikací Boverolu a některého druhu entomopatogenních hlístic spolu se studiem chování jejich invazních larev v půdě ve vztahu k půdní mikroflóře a fauně by mohl být prospěšný jak z teoretického, tak z praktického hlediska ochrany rostlin. Znalosti z oboru půdní biologie mohou významnou měrou přispět k bližšímu poznání problematiky, kterou s sebou přináší širší uplatnění ekologického zemědělství v praxi.

ZÁVĚR

Aplikace přípravku Boverol s konidii houby *Beauveria bassiana* na půdu úhoru neměla vliv na diverzitu společenstva hlístic, projevil se ale signifikantní nárůst abundance především fytofágních a bakteriofágních druhů. Stimulace abundance byla pravděpodobně nepřímým důsledkem ovlivnění půdního prostředí houbou.

Literatura

- DOWE, A.: Räuberische Pilze und andere pilzliche Nematodenfeinde. Wittenberg Lutherstadt, A. Ziemsen Verlag 1987.
- MERCER, C. F. – GREENWOOD, D. R. – GRANT, J. L.: Effect of plant and microbial chitinases on the eggs and juveniles of *Meloidogyne hapla* Chitwood (Nematoda: Tylenchida). *Nematologica*, 38, 1992: 227-236.
- PIŽL, V.: Is the bioinsecticide Boverol (*Beauveria bassiana*) safe for earthworms? In: PAOLETTI, M. G. – FOISSNER, W. – COLEMAN, D. (Eds.): Soil Biota, Nutrient Cycling and Farming Systems. Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, Lewis Publishers 1993: 81-90.
- POINAR, G. O. Jr.: Recognition of *Neoaplectana* species (Steinernematidae: Rhabditida). *Proc. Helminthol. Soc. Wash.*, 53, 1986: 121-129.
- ŠÁLY, A.: Voľne žijúce nematódy v SSR. Bratislava, Veda 1983.
- WASILEWSKA, L.: Klasifikacja troficzna nicieni glebowych i roslinnych. *Wiad. ekol.*, 17, 1971: 379-388.
- WASILEWSKA, L.: Impact of human activities on nematode communities in terrestrial ecosystems. In: CLARHOLM, M. – BERGSTRÖM, L. (Eds.): Ecology of Arable Land. Kluwer Academic Publishers 1989: 123-132.
- WEISER, J. – MRÁČEK, Z.: Parazitické hlístice hmyzu. Praha, Academia 1988.
- WHARTON, D. A.: A Functional Biology of Nematodes. Kent, Croom Helm Ltd. 1986.
- WISHART, D.: CLUSTAN users manual. Edinburgh University, 3rd Edn. Edinburgh 1981.
- YEATES, G. W. – BONGERS, T. – GOEDE, R. G. M. de – FRECKMAN, D. W. – GEORGIEVA, S. S.: Feeding habits in nematode families and genera – an outline for soil ecologists. *J. Nematol.*, 25, 1993: 315-331.

Došlo 4. 1. 1994

L. Háněl (Institute of Soil Biology AS CR, České Budějovice, Czech Republic)

**Effects of Boverol (*Beauveria bassiana*) application
on soil nematodes (*Nematoda*) in a fallow**

Effects of the biopesticide Boverol on soil nematodes were studied in a fallow in South Bohemia. Boverol contained 1.8×10^{10} live conidia of *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. per 1 g, germinative capacity 86%, $LC_{50} = 7.5 \cdot 10^8$ conidia per g,

and was applied at the dose of 7 kg per ha. Application of Boverol influenced neither the diversity of nematodes nor their seasonal changes. Abundance of nematodes in the treated plot significantly increased 4 months after the Boverol application. An increase in population densities was most remarkable in phytophagous and bacteriophagous nematodes. One year after the Boverol application, no significant differences were observed between nematode communities in control and in treated plots. Indirect effects of Boverol are considered to be a cause of the increase in the population of soil nematodes. Such effects could be higher in insect mortality and larger amounts of food for phytophagous nematodes, changes in soil microflora followed by an increase in bacterivorous nematodes, and enhanced nutrient availability to plants. An influence of chitinolytic microflora (including *B. bassiana*) on nematode egg hatching could also be factor in the increase of nematode. An increase of soil *Rotatoria* and *Tardigrada* was observed, but Boverol had no effect on earthworms, millipedes and isopodes. Generally, Boverol probably has no effect on the non-target soil invertebrate macrofauna, but some groups of soil meso- and microfauna can be affected strongly.

soil *Nematoda*; *Beauveria bassiana*; seasonal changes

**VÝSKYT VRTALKY JIHOAMERICKÉ
LIRIOMYZA HUIDOBRENSIS (BLANCHARD, 1926)
NA GYPSOPHILA ELEGANS L.**

Vít BITTNER, Miloš ČERNÝ¹

*Správa ochrany rostlin, Státní zkušební ústav zemědělský, Jaselská 16,
746 23 Opava; ¹763 63 Halenkovice 593, Česká republika*

Při fytokaranténní prohlídce rostlin *Gypsophila elegans* L. z Nizozemí bylo zjištěno napadení nebezpečnou vrtalkou *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard, 1926). Na listech byly zjištěny typické miny, larvy i pupária, z nichž bylo možné vychovat dospělé samce i samice a škůdce determinovat. Jde o první známý výskyt vrtalky na našem území na dováženém materiálu. Napadené rostliny byly likvidovány. V práci jsou uvedeny identifikační znaky, hostitelský okruh a bionomie škůdce. Dále jsou krátce diskutovány možnosti a důležitost ochranných opatření.

Liriomyza huidobrensis; *Gypsophila elegans*; identifikace; bionomie; hostitelé; ochrana

V souvislosti se zvýšeným importem zahradnických výpěstků ze zahraničí se výrazně zvyšuje nebezpečí zavlečení nových velmi škodlivých karanténních škůdců a chorob. Touto novou hrozbou pro naše zahradnictví se může stát jihoamerická vrtalka *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard, 1926).

Tato vrtalka je původem neotropický druh, rozšířený ve všech zemích jižní Ameriky a na některých přilehlých ostrovech (Okrouhlá, 1991). V Argentině se rozšířila podél pohoří And, v Brazílii naopak zabránila amazonská pánev jejímu šíření východním směrem. Její výskyt byl v severní Americe hlášen z Kalifornie a Havajských ostrovů. Od roku 1989 je známo její trvalé usídlení v Nizozemí, kde působí velmi vážné škody. Dále byla zjištěna ve Francii, kde byla přijata velmi přísná karanténní opatření zvláště v oblasti Bretaně, zabraňující jejímu dalšímu šíření a introdukci na britské ostrovy. I zde však byla fytokaranténní inspekci několikrát zaznamenána na hrachu a chryzantémách. Existují zprávy o jejím výskytu v SRN, Rakousku a Itálii.

První výskyt v České republice byl zaznamenán 9. září 1993 v Hranicích na Moravě při fyto karanténě prohlídce rostlin *Gypsophila elegans* dovezených z Nizozemí. Asi o měsíc později byla vrtalka stejného původu opět zachycena pracovníky Správy ochrany rostlin na stejném hostiteli. Na rostlinách byly pozorovány miny na spodní straně listů a množství larev a puparií, z nichž se podařilo dopěstovat imága samců i samic. Rostliny napadené touto vrtalkou byly likvidovány a dosud není známo, že by došlo k jejímu trvalému usídlení na našem území.

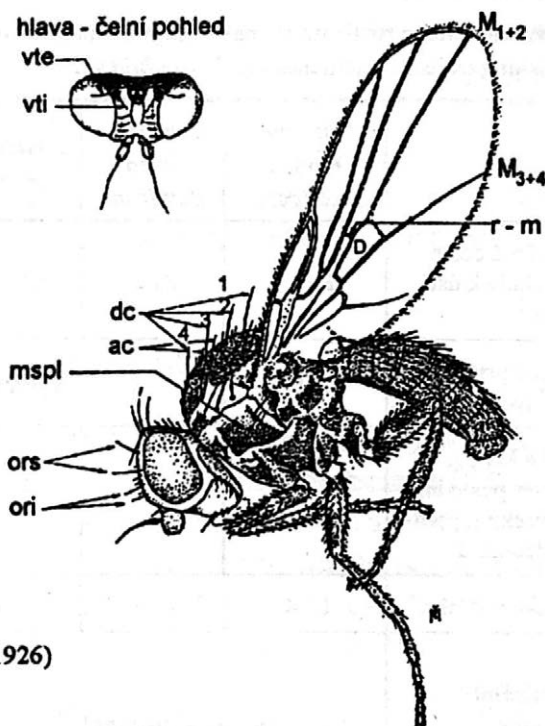
IDENTIFIKACE

Z velkého počtu minujících mušek čeledi Agromyzidae je známo pět druhů, jejichž hostiteli jsou rostliny z rodu *Gypsophila*. Tři z nich patří k velmi významným polyfágním druhům rozšířeným po celém světě. Nejznámější je vrtalka *Chromatomyia horticola* (Goureau), jejíž larvy vytvářejí v listech rostlin úzké a dlouhé miny na lícni i spodní straně, s typicky uloženým pupariem na konci miny (Spencer, 1973). Další dva významní polyfágové minující na listech rostlin rodu *Gypsophila* jsou *Liriomyza trifolii* (Burgess) a *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard). Z polské části Tater je známý druh *Liriomyza gypsophila* Beiger (Beiger, 1972). Pro všechny druhy rodu *Liriomyza* je typickým rozlišovacím znakem žlutě zbarvený štítek (scutellum). Pátým druhem je vrtalka *Amauromyza flavifrons* (Mg.), která vytváří nápadně bílé plošné miny také na rostlinách řepy *Beta* sp. Jak uvádí Spencer (1990), je pro tuto vrtalku *Gypsophila* sp. nově objevenou hostitelskou rostlinou.

Vrtalka *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) škodí žírem larev na spodní straně listů a převážně podél listové žilnatiny, čímž se liší od příbuzných druhů *Liriomyza trifolii* a *Liriomyza bryoniae*, jejichž miny jsou na svrchní straně listů. Vrtalka jihoamerická patří velikostí mezi středně velké druhy vrtalek se žlutou hlavou, převážně černou mesopleurou, žlutohnědými končetinami a tmavším třetím tykadlovým článkem (obr. 1).

Dospělá vrtalka je 2,3 mm velká, velikost křídel je 1,7 až 2,25 mm. Orbity v profilu zřetelně předstupují před okem na šířku třetího tykadlového článku. Líce jsou hluboké a dosahují více než třetiny výšky oka. Třetí tykadlový článek je malý a kulovitý, arista je u báze rozšířená, ke špici se postupně zužuje. Na orbitech vyrůstají dvě horní (ors) a dvě spodní (ori) orbitální štětiny. Orbitální vlásky vlásky jsou řídké a dolů zahnuté. Oči jsou poněkud šikmé.

ac = acrostichální štětiny
 D = diskoidální políčko
 dc = dorsocentrální štětiny
 M_{1+2}, M_{3+4} = mediální žilky
 mspl = mesopleura
 ori = spodní orbitální štětina
 ors = horní orbitální štětina
 r-m = radiomediální příčná žilka
 vte = vnější vertikální štětina
 vti = vnitřní vertikální štětina



1. *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard, 1926)

šikmé. Na mesonotu jsou umístěny 3 + 1 dorsocentrální štětiny (dc), přičemž třetí a čtvrtá štětina jsou stejně vzdálené od příčného švu a čtvrtá štětina je nepatrně kratší než třetí. Acrostichální štětinky (ac) jsou nepravidelně uspořádané ve čtyřech řadách. Žilnatina křídel není plně vyvinuta. Zesílená kostální žilka dosahuje až k ústí mediální žilky M_{1+2} . Délka posledního úseku podélné mediální žilky M_{3+4} je poněkud variabilní a dosahuje 2 až 2,5 délky předposledního úseku. Postavení první příčné žilky je také variabilní a nachází se před nebo za středem diskoidálního políčka (D).

Zbarvení vrtalky je žlutohnědé s černými ploškami na hrudi. Čelo je žluté, spíše do oranžova než světle citrónově žluté. Orbity nad horní orbitální štětinou (ors) jsou zřetelně tmavší, obě vnitřní vertikální štětiny (vti, vte) jsou umístěny v tmavším políčku (Moreth, 1993). Záhlaví je černé, třetí tykadlový článek je hnědožlutý a u světlejších jedinců žlutý. Mesonotum je leskle černé. Zbarvení mesopleury bývá variabilní, ale černá skvrna obvykle zaujímá dvě třetiny plochy (Moreth, 1993). Mesopleurální štětiny jsou umístěny na černém podkladě. Končetiny jsou hnědožluté, kyčle hnědé, stehna u báze žlutá s tmavými pásy na hnědožlutém podkladu. Zadeček je žlutohnědý s velmi úzkým lemem zadního okraje tergů. Křídlní šupiny jsou

I. Charakteristické rozlišovací znaky druhů minujících na *Gypsophila* sp. – Characteristic distinguishing traits of leafminers on *Gypsophila* sp.

	<i>Chromatomyia horticola</i>	<i>Amauromyza flavifrons</i>	<i>Liriomyza trifolii</i>	<i>Liriomyza huidobrensis</i>	<i>Liriomyza gypsophila</i>
Zesílená costa dosahuje k ústí žilky ¹	R ₄ + 5	M ₁ + 2	M ₁ + 2	M ₁ + 2	M ₁ + 2
Druhá příčná žilka ² (r-m)	chybí ⁹	výtvořena ¹⁰			chybí
Žilka M ₃ + 4, poměr posledního úseku k předposlednímu ³	–	3,5 : 1	2 : 1	2-2,5 : 1	–
Výška líce/oko ⁴	1 : 4	1 : 6	1 : 4	1 : 2-3	1 : 4
Vertikální štětinky ⁵ (vte, vti)	obě ve žlutém poli ¹¹			obě v černém poli ¹²	vnější na okraji žlutého pole, vnitřní ve žlutém poli ¹³
Třetí tykadlový článek ⁶	kulatý ¹⁴				hrnatý ¹⁵
Mesonotum	tmavé, šedě poprášené ¹⁶	černé, matné ¹⁷	černé, lesklé ¹⁸	černé, matné ¹⁷	černé, šedě poprášené ¹⁹
Mesopleura (mspl)	šedá, zadní lem žlutý ²⁰	tmavá ²¹	žlutá, 1/4 černá ²²	žlutá, větší 2/3 černé ²³	žlutá, 1/2 černá ²⁴
Štítek ⁷	tmavý ²⁵	černý ²⁶	žlutý ²⁷		
Acrostichální štětinky ⁸	chybí ⁹	4-5 řad ²⁸	4 řady ²⁹		

¹thickened costa reaches to vein outlet; ²second transverse vein; ³vein M₃ + 4, ratio of last segment to last but one segment; ⁴cheek/eye level; ⁵vertical hairs; ⁶3rd antenna segment; ⁷scutellum; ⁸acrostichal hairs; ⁹missing; ¹⁰formed; ¹¹both in yellow field; ¹²both in black field; ¹³external on the margin of yellow field, internal in yellow field; ¹⁴round; ¹⁵angular; ¹⁶dark, gray dusted; ¹⁷black matt; ¹⁸black glossy; ¹⁹black gray dusted; ²⁰gray yellow rear border; ²¹dark; ²²yellow 1/4 black; ²³yellow larger 2/3 black; ²⁴yellow 1/2 black; ²⁵dark; ²⁶black; ²⁷yellow; ²⁸4-5 rows; ²⁹4 rows

šedožluté s černým okrajem a trásněmi. V tab. I jsou uvedeny hlavní znaky pro rozlišení dospělých jedinců druhů vrtalek, jež mohou tvořit miny na rostlinách rodu *Gypsophila*.

Larva vrtalky *Liriomyza huidobrensis* dosahuje délky až 3,25 mm, bývá žlutobílá; zadní vyústění vzdušnic jsou ve tvaru pravidelné elipsy s šesti až devíti dýchacími pupeny. Pupárium je žlutohnědé nebo červenohnědé. Determinace podle larev či pupárií je velmi obtížná.

HOSTITELSKÝ OKRUH

Hostitelé jsou podobní jako u další škodlivé vrtalky *Liriomyza trifolii*, jež se často v Evropě vyskytuje na chryzantémách a gerberách (Spencer, 1990). Celkem je známo 14 čeledí rostlin, které mohou být vrtalkou *Liriomyza huidobrensis* napadány. Mezi významné čeledi, pokud jde o napadení, patří Chenopodiaceae, Fabaceae, Cucurbitaceae, Liliaceae, Linaceae, Solanaceae, Violaceae, popř. Asteraceae a Silenaceae. Zvláště náchylné jsou užitkové rostliny jako špenát, hlávkový salát, meloun, hrách, bob, cibule, len, rajče, brambory, celer, paprika. Z okrasných je napadána celá řada rostlin z rodů *Achillea*, *Antirrhinum*, *Anemone*, *Aster*, *Calendula*, *Callistephus*, *Carthamus*, *Cirsium*, *Liatris*, *Lisianthus*, *Solidago*, *Solidaster*, *Zinnia*, *Chrysanthemum*, *Gypsophila* a *Dianthus*. Také velká část rostlin komerčně pěstovaných je náchylná k napadení.

BIONOMIE

Vrtalka je teplomilným druhem (Okrouhlá, 1991). Samice žije dva až tři týdny a naklade 200 až 400 vajíček. První symptomy napadení na listech jsou drobné žluté vpichy, vzniklé při úživném žíru a kladení samic. Larva se líhne za tři až sedm dní, za dalších pět až deseti dní se kuklí na listech či na půdě. Po 8 až 21 dnech se líhnou imága. Podle teploty trvá vývoj jedné generace 16 až 38 dní. Škůdce má za rok více generací.

OCHRANNÁ OPATŘENÍ

V prvé řadě je důležité zabránit introdukci vrtalky spolu s dováženým rostlinným materiálem. Na importovaných rostlinách by se neměly vyskytovat miny, jež jsou na rozdíl od obtížného hledání vajíček lehce detek-

ovatelné. Přísná kontrola veškerého dováženého rostlinného materiálu je nezbytná.

V zemích, ve kterých se škůdce již zabydlel, jsou vypracovány systémy ochrany chemické, která s ohledem na vysokou rezistenci vrtalky je silně limitována. Jako účinné se ukazují přípravky oxamyl, cyromazin a abamectin (Leuprecht, 1993). Existují i možnosti biologického boje s využitím parazitoidů *Diglyphus isaea* a *Dacnusa sibirica* (Leuprecht, 1992).

L i t e r a t u r a

BEIGER, M.: Studies on mining insects of the Tatra National Park. 4. *Liriomyza gypsophylae* sp. n. and *Liriomyza clarae* sp. n. (Diptera, Agromyzidae). Pol. Pismo entomol., Wrocław, 42, 1972: 121-130.

LEUPRECHT, B.: Biologische Bekämpfung von *Liriomyza huidobrensis* in Gemüse- und Gewächshäusern. Gesunde Pflanzen, 44, 1992: 222-229.

LEUPRECHT, B.: Untersuchungen zur chemischen und biologischen Bekämpfung einer gefährlichen Minierfliege in Gemüse- und Gewächshäusern. Gesunde Pflanzen, 45, 1993: 89-93.

MORETH, L.: Bestimmungshilfe für wirtschaftliche bedeutsame Minierfliegen (Agromyzidae). Gesunde Pflanzen, 45, 1993: 93-95.

OKROUHLÁ, M.: Vrtalky - nebezpeční škůdci skleníkových kultur. Studie VTR, ÚVTIZ, Ř. Rostl. Výr., 1991(5): 36 s.

SPENCER, K. A.: Agromyzidae (Diptera) of Economic Importance. Ser. Entomologica 9. The Hague, W. Junk 1973: 418

SPENCER, K. A.: Host specialization in the World Agromyzidae (Diptera). Series Entomologica 45, Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1990: 444 s.

Došlo 4. 12 1993

V. Bittner, M. Černý (Opava, Halenkovice, Czech Republic)

The occurrence of the leafminer *Liriomyza huidobrensis* Blanchard on *Gypsophila elegans* L.

During phytosanitary inspection of plants of *Gypsophila elegans* imported from the Netherlands to the Czech republic the dangerous leafminer *Liriomyza huidobrensis* was found. On the leaves there were typical symptoms of the infestation, larvae and pupae and it was possible to rear adults of males and females. This is the

first known occurrence of this leafminer on imported plants in the Czech Republic. The plants were destroyed. Necessary information on the identification, hosts and bionomy of the pest is presented. Moreover, possibilities and importance of protective measures are discussed briefly.

Liriomyza huidobrensis, *Gypsophila elegans*; identification; bionomy; hosts; protection

T I T U S



Výsledek stojí za to.

Klasické technologie ošetřování kukuřice proti plevelům před vzejitím jsou do značné míry závislé na počasí, a proto často nespolehlivé. **TITUS**, systémický herbicid určený k hubení dominantních plevelů v kukuřici, nabízí účinnější řešení - cílenou postemergentní aplikaci. Tím se stává ošetření proti plevelům ekonomicky výhodné a vysoce ekologické. **TITUS** spolehlivě hubí většinu vytrvalých a jednoletých trav i dvouděložných plevelů v kukuřici. Herbicidem **TITUS** lze rovněž ošetřovat brambory. Má krátké reziduální působení v půdě a je bezpečný pro člověka i ostatní živočichy. **TITUS** je výrobek, který Vám poskytne jistotu. Má všechny přednosti přípravků firmy DuPont.

HERBICIDNÍ ÚČINEK

Přípravek hubí většinu vytrvalých a jednoletých trav v kukuřici, především pýr plazivý, čirok halepský, ježatku kuří nohu, rosičky, prosa, béry a dvouděložné plevele - např. šťovíky, šachor, laskavce, svízel přitulu, heřmánkovité, ptačinec žabinec, hořčici rolní, peřour maloborný, ředkev ohnící, výdrol řepky a slunečnice, mléč rolní. Méně citlivé jsou merlíky, rdesna a lilek černý.



© Reg. ochranná známka firmy
E. I. DuPont de Nemours and Co. (Inc.)

DuPont Conoco CS, spol. s r.o., 5. května 65, 140 09 Praha 4, tel.: 02/422 642, fax: 02/61 21 15 55, tlx: 121 834 dupo c
DuPont Conoco CS, spol. s r.o., Štěchovice 1320, 767 11 Kroměříž, tel.: 0634/201 48, fax: 0634/242 61
DuPont Conoco CS, spol. s r.o., Českoskalická 1836, 547 01 Náchod, tel.: 0441/20 748, fax: 0441/20617

KRÁTKÁ SDĚLENÍ

VPLYV NAPADNUTIA RÔZNYCH FORIEM ĎATELINY LÚČNEJ FUZÁRIOVOU KOREŇOVOU HNILOBOU NA OBSAH AMINOKYSELÍN

Bernard VANČO

Výskumný ústav rastlinnej výroby, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany,
Slovenská republika

Pri súčasných tendenciách výroby objemových krmovín sa kladie veľký dôraz na ich nutričnú hodnotu, ktorá súvisí aj s obsahom a kvalitou bielkovín.

Listy pri ďateline lúčnej tvoria významný podiel z celkovej biomasy. Vorlíček (1988) uvádza 23,7 % až 58,0 %, pričom až 60 % N-látok obsahujú práve listy (Fulkerson, 1973 – cit. Vorlíček, 1988). Tiež v listoch lucerny (Mačuha, 1992) bol celkový obsah aminokyselín trojnásobne vyšší v porovnaní so stonkami.

Obsah aminokyselín v biomase kŕmu sa sledoval aj v súvislosti s odolnosťou, napr. pri lucerne proti *Ditylenchus dipsaci*, *Corynebacterium insidiosum*, *Verticillium albo-atrum* (Gubiš, 1980; Kúdela, Krátká, 1981) a pri ďateline lúčnej proti fuzáriovej koreňovej hnilobe (Kováčiková et al., 1989; Nedělník, 1990).

Medzi odrodami neboli podľa niektorých literárnych prameňov (Tomaszewski, Neumann, 1988) zistené podstatné rozdiely v obsahu aminokyselín v biomase ďateliny lúčnej. Sledovanie nutričnej hodnoty ďateliny lúčnej nadobúda na význame aj v súvislosti s tolerantnými odrodami proti koreňovej hnilobe, pri ktorej sa počíta s určitým stupňom napadnutia. V príspevku dopĺňame doterajšie poznatky o analýze aminokyselín v listoch rôznych foriem ďateliny lúčnej podľa skorosti a plošdie v kombinácii s rôznym stupňom napadnutia fuzáriovou koreňovou hnilobou.

MATERIÁL A METÓDY

V rámci riešenia genetických zdrojov ďateliny lúčnej sa v skleníkových podmienkach testovalo na odolnosť proti fuzáriovej koreňovej hnilobe 29 odrôd ďateliny lúčnej domáceho i zahraničného pôvodu. Pokus bol založený 7. 3. 1991 a po infikovaní rastlín 14. 5. 1991 zmesou konídií *F. oxysporum* a *F. solani* sme rastliny presadili do črepníkov. Prvýkrát sme hodnotili hmotnosť nadzemnej časti rastlín 18. 6.

1991. Pri druhom hodnotení nadzemnej hmoty rastlín sme 31. 7. 1991 na pozdĺžnom priereze jednotlivých koreňov hodnotili stupeň napadnutia koreňovou hnilobou stupnicou 0 až 5.

Podrobnosti o predpestovaní rastlín, metódy inokulácie a spôsoby hodnotenia napadnutia rastlín koreňovou hnilobou sú uvedené v publikácii z roku 1991 (Vančo, 1991).

Vzorky listov na analýzu aminokyselín sa pripravili roztriedením rastlín podľa vybraných stupňov napadnutia (0, 2, 4), skorosti a ploídie (tab. I). Jednotlivé vzorky listov na stanovenie aminokyselín boli zložené z viacerých odrôd pri rovnakom podiele listov (2*n*, skorá: Start, PS-35, NG-113200, SE-42, Parka, Atlas, Albatros; stredne skorá: Marathon, MG-113201, ULC-184, POC-381, Pacific; neskorá: Raba Kotlasskij, Pradi; 4*n*, stredne skorá: Javorina, DO-4, DO-2, MŠ-89/217, Hungarotetra, Punkt-1.3, Matrai, HŽ-III, Maneta, Piroska a neskorá: Jubilantka, Temp, VIK-84).

Obsah aminokyselín stanovených po hydrolýze sme vo vzorkách listov zisťovali na automatickom analyzátore typu AAA P 339 (Mikrotechna Praha), pri čase trvania hydrolýzy 4 hodiny a teplote 145 °C.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Ako je zrejmé z tab. I, tetraploidná forma ďateliny lúčnej má obsah celkových aminokyselín v priemer vyšší o 5,03 % a podiel esenciálnych aminokyselín vyšší o 1,49 % v porovnaní s diploidnou formou. Z literatúry sú známe podobné výsledky (Novotný, 1987; Tomaszewski, Neumann, 1988), aj keď štatisticky nevýznamné. Väčšie rozdiely v obsahu celkových aminokyselín (tab. I) boli zistené medzi vzorkami listov hodnotených populácií podľa rastového a vývojového rytmu (skorosti). Bolo zaznamenané stúpanie obsahu celkových aminokyselín smerom od skoršej k neskorej forme ďateliny lúčnej. Pri diploidnej a neskorej forme bol celkový obsah aminokyselín vyšší o 15,9 % v porovnaní so skorou formou a pri tetraploidnej forme v porovnaní so stredne skorou formou o 11,5 %, pričom medzi populáciami, bez ohľadu na stupeň napadnutia koreňovou hnilobou, ploídiu a skorosť, variačné rozpätie obsahu celkových aminokyselín 11 populácií dosiahlo hodnoty až 34,0 %. Podiel esenciálnych aminokyselín v sledovaných vzorkách podľa skorosti bol bez zreteľnej tendencie.

Udáva sa, že je podstatný rozdiel v metabolizme medzi odolnými a náchylnými rastlinami (Šebánek, 1983). Vo vzorkách listov sa analyzoval celkový obsah aminokyselín a podiel esenciálnych aminokyselín podľa stupňa napadnutia fuzáriovou

I. Obsah celkových aminokyselín a podiel esenciálnych aminokyselín v listoch d'ateliny lúčnej podľa skorosti a stupňa napadnutia fuzáriovou koreňovou hnilobou – Total amino acids and percentage of essential amino acid in leaves of varieties of red clover differing in earliness and severity of infection with *Fusarium* root rot

Ploidia ¹	Skorost' ²	Stupeň napadnutia ⁷	Celkové AMK [g/kg]	Podiel EAMK ⁸ [%]
2n	skorá ³	0	177,82	43,67
		2	150,23	45,81
		4	156,45	46,51
		priemer	161,50	45,33
	stredne skorá ⁴	0	170,85	46,65
		2	172,04	46,96
		4	164,98	46,46
		priemer	169,29	46,69
	neskorá ⁵	0	186,51	46,38
		2	176,03	44,74
		4	202,56	44,76
		priemer	188,36	45,29
	priemer ⁶	0	178,39	45,57
		2	166,10	45,84
		4	174,67	45,91
	celkový priemer		169,02	45,76
4n	stredne skorá	0	181,29	46,57
		2	168,41	47,54
		4	166,76	47,85
		priemer	172,15	47,32
	neskorá	0	195,96	46,29
		2	201,72	47,01
		4	179,67	46,79
		priemer	192,45	46,69
	priemer	0	188,62	46,43
		2	185,07	47,27
		4	173,21	47,32
	celkový priemer		177,53	47,25

¹ploidy; ²earliness; ³early; ⁴medium early; ⁵late; ⁶average; ⁷severity of infection; ⁸percentage

koreňovou hnilobou. V listoch zdravých rastlín bol celkový obsah aminokyselín v priemere vyšší o 5,01 % v porovnaní s rastlinami napadnutých koreňovou hnilobou v stupni 4 a naopak podiel esenciálnych aminokyselín bol najnižší pri zdravých rastlinách. Tieto opačné závislosti zistené pri celkovom priemere i keď nie sú príliš výrazné, javia sa inak pri posudzovaní jednotlivých foriem d'ateliny lúčnej podľa skorosti. Ukazuje sa, ako by sa s neskorosťou populácií rozdiely v celkovom obsahu aminokyselín medzi zdravými a napadnutými rastlinami zmenšovali v neprospech zdravých rastlín. Pri diploidnej skorej forme činil rozdiel v celkovom obsahu aminokyselín medzi zdravými a napadnutými rastlinami v priemere 15,96 % a pri stredne skorej forme 1,38 %. Pri neskorej forme bol už obsah celkových aminokyselín vyšší o 1,49 %. Pri tetraploidnej stredne skorej forme bol obsah celkových aminokyselín napadnutých rastlín nižší v priemere o 8,18 % a pri neskorej forme o 2,76 %.

Tomaszewski, Neumann (1988) a Mačuha (1992) pri sledovaní rôznych odrôd nezistili žiadny vzťah medzi celkovým obsahom aminokyselín a podielom esenciálnych aminokyselín. Pri analýze dosiahnutých výsledkov sa preto venovala pozornosť vplyvu stupňa napadnutia koreňovou hnilobou na podiel esenciálnych aminokyselín a porovnateľne i na obsah celkových aminokyselín. Na rozdiel od celkových aminokyselín sa vplyv stupňa napadnutia na podiel esenciálnych aminokyselín prejavuje skôr opačne. Tendencia tohto vzťahu je jednoznačná, ale trend zvyšovania je v priemere nízky a slábnie smerom k neskorej forme. Možno to dokumentovať aj analýzou výsledkov podľa sledovaných foriem d'ateliny lúčnej. Pri diploidnej forme bol podiel esenciálnych aminokyselín v listoch napadnutých rastlín vyšší oproti zdravým rastlinám v priemere o 2,49 %, pri stredne skorej o 0,05 % a pri neskorej forme sa dokonca znížil o 1,62 %. Podobne pri tetraploidnej stredne skorej forme mali napadnuté rastliny podiel esenciálnych aminokyselín v priemere vyšší o 1,12 % a pri neskorej forme o 0,61 % v porovnaní so zdravými rastlinami.

PodĎakovanie

Ďakujeme Ing. Magdaléne Bielikovej, pracovníčke chemického laboratória, za vykonanie analýz na obsah aminokyselín.

Literatúra

GUBIŠ, V.: Vplyv nákazy lucerny patogénmi *Ditylenchus dipsaci*, *Corynebacterium insidiosum* a *Verticillium albo-atrum* na obsah aminokyselín. Pr. Výsk. Úst. rastl. Výr. v Piešťanoch, 17, 1980: 45-54.

- KOVAČIKOVÁ, E. – JAKEŠOVÁ, H. – NOVOTNÝ, F.: Obsah aminokyselin v odrůdách jetele lučního s různou rezistencí vůči patogenním houbám rodu *Fusarium*. Rostl. Výr., 35, 1989: 1169-1175.
- KÚDELA, V. – KRÁTKÁ, J.: The content of bound amino acids in lucerne plants infected with the bacterial wilt. Zbl. Bakt. Abt. II, 136, 1981: 359-365.
- MAČUHA, P.: Ukazovatele obsahu a kvality N-látok pri odrodách lucerny siatej. Krmivárství a Služby, 1992: 1-2.
- NEDĚLNÍK, J.: Obsah aminokyselin v rostlinách jetele lučního po selekci na rezistenci vůči *Fusarium* spp. Rostl. Výr., 36, 1990: 865-871.
- NOVOTNÝ, F. – MÍKA, V.: Volné a vázané aminokyseliny v odrůdách jetele lučního a trav. In: Sbor. Věd. prací Výzk. šlecht. úst. pčinn, Troubsko, 10, 1987: 65-71.
- ŠEBÁNEK, J. a kol.: Fyziologie rostlin. Praha, SZN 1983: 558 s.
- TOMASZEWSKI, Z. – NEUMANN, M.: Porównanie zawartości aminokwasów w diploidalnych i tetraploidalnych formach koniczyzny czerwonej (*Trifolium pratense* L.) Biul. Inst. Hod. i Aklim. Rośl., Radzikow, 167, 1988: 87-91.
- VANČO, B.: Náchylnosť vybraného sortimentu ďateliny lúčnej na koreňovú hnilobu a odumieranie rastlín. Genetické zdroje rastlín. Ročenka VŠP v Nitre, 1991: 27-32.
- VORLÍČEK, Z.: Změny nutriční hodnoty listu jetele lučního během ontogeneze. Rostl. Výr., 34, 1988: 1213-1220

Došlo 30. 8. 1993

B. Vančo (Research Institute of Plant Protection, Piešťany, Slovak Republic)

Effect of infection by *Fusarium* root rot on the amino acid content of different forms of red clover

When studying the tolerance of varieties of different forms of red clover to *Fusarium* root rot under greenhouse conditions, the amino acid content in the leaves was evaluated. The varieties were selected according to the level of ploidy and growth-development rhythm. After two months the plants were inoculated with a mixture of conidia of *Fusarium oxysporum* and *F. solani* and after two months the level of necrosis was evaluated at the cross section of the root. For determination of amino acid content in the samples of leaves the limit degree of the plant attack by the root rot, ploidy level and growth-development rhythm were used.

The total amino acid content of a variety is determined more by its growth and development rhythm, than by the degree of ploidy. After infection, the content of total amino acids decreased more markedly at early form than at the late one, while the proportion of essential amino acids was decreasing in opposite direction.

Trifolium pratense L.; amino acid; *Fusarium* root rot

ŽIVOTNÍ JUBILEA

Prof. ing. Jaroslav Bartoš, CSc., sedmdesátníkem

U příležitosti sedmdesátého výročí narození prof. ing. Jaroslava Bartoše, CSc., které připadlo na 20. dubna letošního roku, se sešla skupina o něco málo mladších jeho kolegů, aby společně zavzpomínali na uplynulá desetiletí, kdy se bouřlivě rozvíjelo poznání v ochraně rostlin a také její výkonná praktická služba. Bylo vzpomenu to na mnoho událostí, z nichž některé ani v současnosti nedošly zapomenutí a naopak se vyprávěly příběhy, na které se již zapomnělo. Při setkání se Jaroslav prezentoval stále velmi dobrou paměť a jeho schopností upoutat pozornost společnosti. Je až neuvěřitelné, že náš jubilant se za poslední léta téměř nemění a zdá se, jako by činnou službu na Katedře ochrany rostlin VŠZ v Praze-Suchdole opustil před několika dny.

Pro všechny, včetně jubilanta, bylo setkání příjemným zážitkem, příležitostí si vzájemně pohovořit, a to nejen o minulosti, ale i současnosti života, který přináší jiné pohledy, povinnosti vůči stáří a také i mnohé starosti. Chtěl bych Jaroslavovi za nás za všechny, kteří jsme s ním spolupracovali, popřát stále zdraví, které se ho drží a také mu přejeme, aby se dostavilo brzké uzdravení jeho paní, která prodělala dlouhodobé nemocniční léčení.

Prof. ing. Vladimír Tábořský, CSc.

AKTUALITY

**Nové poznatky ve výzkumu rostlinných virů
prezentované na IX. Mezinárodním virologickém kongresu
v Glasgowě (Skotsko) 8. - 13. 8. 1993**

IX. Mezinárodní virologický kongres se konal ve Skotském výstavním a kongresovém centru města Glasgow a zúčastnilo se ho téměř tři tisíce virologů, z toho asi čtyři sta rostlinných virologů z různých zemí všech kontinentů. Účast vybraných virologů z rozvojových a postkomunistických zemí byla podpořena nadací kongresu (úhrada kongresového poplatku a ubytování).

Pětidenní jednání probíhala dopoledne v plenárních zasedáních (vždy pět referátů), odpoledne v pracovních skupinách, přičemž rostlinná virologie měla své pracovní skupiny, pouze taxonomická a klasifikační problematika byla společná pro humánní, veterinární a rostlinnou virologii.

Úvodní plenární přednáška prof. Mersona (WHO Ženeva) pojednávala o globální strategii proti šíření onemocnění AIDS. Choroba AIDS byla zjištěna poprvé v roce 1981, počátkem roku 1993 bylo infikováno 13 mil. lidí, z toho u 2,5 mil. lidí se projeví příznaky choroby. Infekce HIV nebyla dosud v žádné zemi zastavena. V Evropě je infikováno 500 000 lidí, v Africe 8 mil., v Asii 1,5 mil., v Rusku 500 000, v Severní Americe 1 mil. a v Jižní Americe 1,5 mil. lidí. Polovina případů HIV infekce se vyskytla u lidí ve věku 15 až 24 let. V současné době je ve vývoji 21 vakcín proti HIV, z toho 13 preventivních a 8 terapeutických, které připadají v úvahu pro zkoušky na zvířatech, potom teprve budou vybrané vakcíny použity pro člověka a vyhodnoceny; WHO bude sponzorovat tři oblasti vyhodnocení vakcín – Jižní Ameriku, střední Afriku, jihovýchodní Asii.

Tématem plenárních přednášek dalších dnů kongresu byla exprese virového genu, molekulární podstata onemocnění, interakce virus – hostitel a vliv molekulární biologie na diagnostiku a ochranná opatření.

Během odpoledne bylo předneseno vždy 16 přednášek ke dvěma tématům rostlinné virologie. Kromě toho bylo předneseno osm příspěvků k problematice viroidů a dvě přednášky o taxonomii rostlinných virů v taxonomické a klasifikační pracovní skupině. Tematická jednání rostlinné virologie byla rozčleněna do skupin: replikace rostlinných virů, genová exprese RNA virů, genová exprese DNA virů, pohyb virů v rostlinách, molekulární základ exprese příznaků v rostlinách, mechanismy virové rezistence v rostlinách, mechanismy přenosu rostlinných virů vektory, interakce a satelitismus u rostlinných virů, variabilita a minievoluce rostlinných virů a pokrok

v technikách výzkumu rostlinných virů. Celkem bylo v pracovních skupinách předneseno 90 přednášek k problematice rostlinných virů a viroidů.

Kromě toho bylo na kongresu prezentováno 266 posterů k problematice rostlinné virologie ve dvou skupinách. V první skupině byl prezentován též poster J. Poláka a P. Svobody: Detekce některých virů v českém chmelu. Postery byly rozčleněny do stejných témat jako prezence přednášek v jednotlivých pracovních skupinách. Ve skupině replikace rostlinných virů bylo prezentováno 36 posterů, ve skupinách genová exprese RNA virů 29, genová exprese DNA virů, pohyb virů v rostlinách 22, molekulární základ exprese příznaků v rostlinách 14, mechanismy rezistence virů v rostlinách 35, mechanismy přenosu virů vektorem 21, interakce a satelitismus u rostlinných virů 13, variace a minievoluce rostlinných virů 29, viroidy 10 a pokrok v technikách rostlinných virů 24 posterů. Další postery prezentující výsledky výzkumu rostlinných virů byly prezentovány v tématech: struktura virů (1), taxonomie virů (7), virové choroby v tropických zemích (2), viry hub a eukaryont (1) a povolení geneticky modifikovaných virů (3).

Význam viru bronzovitosti rajčete a přínos holandských virologů k výzkumu tohoto viru byl zdůrazněn přednáškou prof. Goldbacha a pěti spolupracovníků z univerzity ve Wageningen k problematice exprese genomu TSWV, který byl nedávno začleněn do čeledi Bunyaviridae zahrnující druhy infikující rostliny a zvířata. Druhy infikující rostliny byly odděleny do samostatného rodu Tospovirus, pojmenovaného podle TSWV. TSWV obsahuje tripartitní genom L, M a S RNA. Pět ORF specifikuje přinejmenším šest funkčních proteinů, z nichž jeden je nestrukturální NSm 33,6 kD. Tento nestrukturální protein může mít klíčovou úlohu pro virulenci ve vztahu k rostlinám. TSWV infikuje více než 500 druhů rostlin.

Dr. Baulcombe (Velká Británie) přednesl plenární přednášku „Antivirová obrana v rostlinách“. V rostlinách existuje několik odlišných mechanismů rezistence k virům, ačkoli převládá typ, u něhož je antivirový mechanismus indukován v infikované rostlině. Indukovaná rezistence je třífázovým procesem, ve kterém zjištění viru iniciuje signál převodní cesty vedoucí k expresi obranných odpovědí. Ukazuje se, že odpovědní fáze jsou v interakcích různých rostlin a různých virů společné, univerzální. To indikuje existenci všeobecného obranného systému v rostlinách. Signální a odpovědní stadia rezistence jsou pouze částečně objasněna. Mezibuněčná signalizace zahrnuje salicylovou kyselinu a v buňkách projevujících indukovanou rezistenci existují série biochemických a fyzikálních změn, které jsou součástí obrany proti virům. Univerzální rezistenci je možné v rostlinách manipulovat pomocí genového inženýrství.

Ve vztahu k virovým chorobám a virům hospodářsky významným pro Českou republiku byly v přednáškách pracovních skupin a v posterech prezentovány především tyto výsledky:

Na úseku replikace rostlinných virů Heyrand et al. (Německo) zmapovali počátek syntézy virové DNA analýzou mutantů viru zakrslosti pšenice. Zjistili, že způsob replikace geminivirů sleduje mechanismus kolébového kruhu. Bol et al. (Holandsko) sledovali úlohu obalového proteinu v začátku infekce virem mozaiky vojtekšky. Zjistili, že RNA 1 a 2 viru mozaiky vojtekšky kódují replikázové proteiny P1 a P2. RNA 3 kóduje transportní protein P3 a obalový protein. Předpokládá se specifická vazba obalového proteinu k 3'-terminálu RNA, která chrání RNA viru před degradací. De Graaf et al. (Holandsko) izolovali a charakterizovali replikační komplexy viru mozaiky vojtekšky. Replikační komplexy AMV jsou spojeny s intaktními chloroplasty listů tabáku. Syntéza a uvolnění RNA jsou silně stimulovány obalovým proteinem viru. Van Rossum et al. (Holandsko) zmapovali sekvenční potřebné pro replikaci RNA 1 a RNA 2 viru mozaiky vojtekšky. Van der Vossen et al. (Holandsko) objasnili úlohu 3'-terminálu RNA viru mozaiky vojtekšky v replikaci RNA viru. Navrhovaná skupina rostlinných tricorna virů zahrnuje bromoviry, cucumoviry, ilarviry a virus mozaiky vojtekšky. Avšak na rozdíl od bromo- a cucumovirů 3'-terminál RNA viru mozaiky vojtekšky a ilarvirů neobsahuje strukturu podobnou t-RNA. Místo toho obsahuje vazbové místo s vysokou afinitou pro obalový protein. Řádná funkce obalového proteinu v RNA replikaci zahrnuje oba, zinek vázající a pozitivně nabitě regiony. Interakci RNA viru mozaiky vojtekšky s obalovým proteinem viru dále objasnili Rensken a Bol (Holandsko). Pro iniciaci virové infekce a vzniku sestavení virionu je nutná formace specifických komplexů RNA - obalový protein.

Symons et al. (Austrálie) referovali o molekulární charakterizaci nové subgenomové RNA 4A viru mozaiky okurky, která je složena z 682 nukleotidů. CMV obsahuje tři genomové RNA (RNA 1, 2, 3) a subgenomovou RNA 4, která kóduje 1a, 2a, 3a obalový protein. Nově charakterizovaná RNA 4A se vyskytuje v Q kmenu CMV a o funkci tohoto nového genu není dosud nic známo. Gal-On et al. (USA) poukázali na difference v replikaci dvou kmenů CMV v rostlinách *Cucurbita pepo* (zucchini) a tabáku. Passmore et al. (USA) zjistili, že subvirová, replikační RNA stimuluje replikaci viru západní žloutenky řepy. ST9 kmen BWYV obsahuje kromě genomové 5,6 kb RNA ještě přidruženou subvirovou 2,8 kb RNA. Tento kmen vyvolává v infikovaných rostlinách velmi silné příznaky a titr viru je desetkrát vyšší než v rostlinách infikovaných mírným kmenem BWYV.

Z hlediska možného šíření viru chlorotické skvrnitosti okurky z jižní Francie na východ byl zajímavý poster de Re vera et al. (Holandsko), který prezentoval analýzu sekvencí RNA tohoto closterviru, přenosného molice. Cucumber chlorotic spot virus je nový virus přenášený molicí *Trialeurodes vaporariorum*, stejně tak jako dřívě popsané clostero-podobné viry, beet pseudo-yellows virus (Kalifornie), cucumber yellows virus (Japonsko) a muskmelon yellows virus (Francie). Na mladých listech okurek vyvolává chlorotické skvrny, na starších mezižilkové žloutnutí, později kompletní chlorózu. Sekvenční analýzou RNA viru byla zjištěna nejbližší příbuznost k viru žloutenky řepy, i když se od něho významně liší. Mäkinen et al. (Finsko) provedli úplnou analýzu sekvencí A viru bramboru. RNA genom PVA obsahuje 9 568 nukleotidů. Celková homologie nukleotidů PVA porovnávaná s několika jinými potyviry je 53–58 % a homologie polypeptidů je 65–71 %. Salánki et al. (Maďarsko) zjistili, že kompletní genom RNA 3 viru aspermie rajčete obsahuje 2 222 nukleotidů.

V pracovní skupině a posterech **Expresse genu RNA rostlinných virů** byly předneseny tyto nejdůležitější příspěvky:

Beck et al. (Nový Zéland) zjistili, že transgenní rostliny transformované transportními geny potexviru mozaiky bílého jetele jsou odolné k virové infekci. Pro šíření viru v rostlinách má význam obalový protein a blok transportních proteinů 26K, 13K a 7K. Pomocí transportních proteinů 13K a 7K se podařilo transformovat rostlinu *Nicotiana bentamiana*, které byly 100% rezistentní k infekci WCPMV.

Velmi zajímavé výsledky byly dosaženy při konstrukci chimérických virů, při níž byli získáni kříženci rostlinných virů tak, že byla kombinována RNA jednoho viru s obalovým proteinem jiného viru. Zhang a Palukaitis (USA) zkonstruovali virus, u něhož je na RNA TMV navázán obalový protein CMV, virus je infekční a formuje izometrické částice identické s CMV viriony *in vivo* v rostlinách.

Agranovsky et al. (Rusko) stanovili úplný počet sekvencí RNA genomu viru žloutenky řepy na 15 479 nukleotidů. Domény metyltransferázy, helikázy a polymerázy (RdRp) mají afinitu odpovídající proteinům toba-, tobamo- a tricornavirů. Předpokládaná řídící proteáza je vzdáleně příbuzná potyvírům.

Kormelink et al. (Holandsko) provedli funkční analýzu nestrukturálních proteinů viru bronzovitosti rajčete, který obsahuje čtyři strukturální proteiny. Prokázali existenci dvou nestrukturálních proteinů – NS_M 33,6 K a NS_S 52,4 K, které mají úlohu v pohybu viru mezi buňkami a v přenosnosti třásněnkami. Kelly et al. (Austrálie) provedli analýzu subgenomových RNA viru žluté zakrslosti ječmene a porovnání několika BYDV-PAV izolátů. Reichel et al. (Německo) analyzovali vazby obalového proteinu viru žluté mozaiky ječmene na nukleovou kyselinu. BaYMV je

bipartitní plus ssRNA virus přenosný houbou *Polymyxa betae*. Vazba obalového proteinu na RNA je analogická jiným RNA virům jako TMV a AMV. Buckley et al. (USA) stanovili 2 022 nukleotidů RNA viru kroužkovitosti tabáku, tobacco ringspot virus.

Z řady dalších posterů je nutné se zmínit o japonských výsledcích (Mori et al.), které prokázaly účinnou produkci lidského gamma interferonu v protoplastech tabáku geneticky manipulovaných RNA viru mozaiky sivepu.

V pracovní skupině a posterech **Expresse genu DNA rostlinných virů** byly prezentovány tyto nejdůležitější výsledky:

Hagen et al. (Francie) stanovili organizaci genomu a sekvenci nukleotidů viru zduření výhonků kakaovníku. Tento baciliformní Badnavirus s ds DNA obsahuje 7 161 párů nukleotidů. Mullineaux et al. (Velká Británie) referovali o replikaci DNA a expresi genu viru zakrslosti pšenice (WDV). Další příspěvky se týkaly exprese DNA virů tropických a subtropických kultur a jeden translace proteinů viru mozaiky kvěťáku.

Několik posterů prezentovalo problematiku geminiviru žluté kadeřavosti listů rajčete (TYLCV), potenciálně aktuální pro Českou republiku. Accotto et al. (Itálie) identifikovali nový kmen viru s 2 773 nukleotidy na Sicílii, s menšími odlišnostmi v sekvenční homologii DNA od izolátu ze Sardinie a s většími od izolátů TYLCV z jiných světadílů. Ridgen et al. (Austrálie, V. Británie) zjistili, že australský izolát TYLCV a jeho cirkulární ss DNA obsahuje 2 766 nukleotidů. Naproti tomu Abdallah et al. (Egypt, USA) dospěli k závěru, že genom egyptského izolátu TYLCV obsahuje 2 784 nukleotidů. Wartig et al. (Francie, Itálie) prokázali, že TYLCV kóduje vedle kapsidového proteinu V 2 cytoplasmatický nestrukturální 13 kD protein ve vztahu k systémovému pohybu a příznakům viru. Naproti tomu kapsidový protein V 2 se vyskytuje jen v buněčném jádru.

V rámci problematiky **Pohyb viru v rostlinách** byla prezentována řada charakterizací pohybových proteinů rostlinných virů. Rouleau et al. (Kanada) charakterizovali pohybový protein 26 kD potexviru ORF 2, který je přítomen v extraktech infikovaných rostlin v rozpustné formě. Waigmann et al. (USA) zjistili 20 kD pohybový protein TMV, který prochází plasmodesmaty a umožňuje systémové šíření viru z původně infikované buňky. Tacke et al. prokázali, že 17 kD transportní protein viru svinutky bramboru zprostředkuje rezistenci v transgenních rostlinách. Dolja et al. (USA) vyhodnotili vlivy mutací a odolných nositelů na replikaci a pohyb tobacco etch potyvru. Taliansky et al. (Rusko) uvedli, že v transgenních rostlinách produkujících nefunkční virové transportní proteiny dochází k redukci akumulace TMV. Talianski et al. (Rusko, Španělsko) zjistili, že pohybový protein

viru mozaiky okurky otevírá plasmodesmata a usnadňuje šíření viru aspermie rajčete v rostlinách okurek. Welcher et al. (USA) dospěli k závěru, že pohybové proteiny několika skupin virů jsou příbuzné v sekvenci aminokyselin. Perbal et al. (Velká Británie) prokázali, že pohybový protein viru mozaiky kvěťáku vytváří na povrchu infikovaných protoplastů tubuly. Tubulární struktury obsahují virové částice. Výzkum molekulárního základu pohybu viru enační mozaiky hrachu vychází ze skutečnosti, že jedna část genomu (RNA 1) PEMV se podobá genomu luteovirů a druhá část (RNA 2) se podobá genomu carmo- a tombus-virů. Leisner a Howell (USA) zkoumali systémový pohyb CaMV floémem rostlin *Arabidopsis thaliana*.

Na úseku výzkumu **Molekulární základy exprese příznaku v rostlinách** Banerjee et al. (USA) došli k závěru, že za příznaky silného žloutnutí listů tabáku jsou odpovědné dvě změny v aminokyselinách na dvou místech (aa 19, aa 138) RNA. Cervera et al. (Španělsko) se pokusili lokalizovat determinanty patogenity v genomu viru šarky švestky pomocí konstrukce několika chimérických virů *in vitro* rekombinací. Maule a Wang (Velká Británie) zkoumali mechanismus přenosu pea seed-borne mosaic virus semenem dvou odrůd hrachu. V buňkách aktivně replikujících virus docházelo k inhibici exprese genu hostitele. Antignus et al. (Izrael) zjistili, že klonování viru žluté kadeřavosti rajčete v *Agrobacterium tumefaciens* a následné inokulace odrůd rajčete měly za následek průkazně mírnější příznaky. Porovnáním sekvencí nukleotidů obou kmenů byly zjištěny průkazné rozdíly. Lehto et al. (Finsko) zkoumali interakci TMV s chloroplasty. Zjistili, že TMV-RNA i obalový protein viru jsou přítomny v 95 % chloroplastů. Obalový protein TMV se uvnitř chloroplastů vyskytuje ve formě virových částic, pseudočástic i jako volný protein. Mechanismus vstupu TMV do protoplastů není znám. Jupin et al. (Francie) prokázali, že dva proteiny kódované RNA 3 viru nekrotické žluté žilkovitosti řepy ovlivňují typ příznaků rizomanie. Izoláty viru obsahující RNA 3 způsobují jasně žluté lokální léze, zatímco ty, v nichž RNA 3 chybí, produkují mnohem mírnější příznaky. Van der Wilk et al. (Holandsko) demonstrovali přípravu rostlin bramboru obsahující protein 28 kD viru svinutky bramboru. Alkaff a Covey (Velká Británie) sledovali vliv genetické diverzity viru mozaiky kvěťáku na interakce virus - hostitel.

Na úseku výzkumu **Mechanismy rezistence k virům v rostlinách** Forsyth a Baulcombe (Velká Británie) analyzovali Nb zprostředkovanou rezistenci v bramboru k X viru bramboru. Nb selhává v potlačení replikace viru v chloroplastech, což indikuje, že mechanismus rezistence je směřován proti pohybu viru po iniciační periodě replikace viru. Prins et al. (Holandsko) získali expresí sekvencí genu virového nukleoproteinu rezistenci k viru bronzovitosti rajčete v transgenních rostlinách tabáku. Truve et al. (Estonsko a Finsko) získali transgenní rostliny tabáku

a bramboru s rezistencí k PVX, PVY a PVS. Tien et al. (Čína) zjistili, že přítomnost obalového proteinu CMV v chloroplastech tabáku má vztah k expresi mozaikových příznaků. Prokázali rovněž, že rostliny tabáku infikované CMV obsahující satelitní RNA reagovaly pouze slabými příznaky mozaiky. Dougherty et al. (USA) připravili transgenní rostliny tabáku obsahující sekvence obalového proteinu PVY a TEV rezistentní k oběma virům. Müller et al. (Velká Británie) získali transgenní rostliny tabáku rezistentní k PVX expresí forem virové replikázy v rostlinách. Albrechtsen et al. (Dánsko) připravili transgenní rostliny tabáku s genem obalového proteinu z PVY^N, které byly odolné proti PVY^N. Derrick a Barker (Skotsko) získali transgenní rostliny bramboru s genem obalového proteinu PLRV se sníženou akumulací PLRV v infikovaných listech a s velmi omezenou akumulací ve floému.

Miranda et al. (Anglie) zkoumali variabilitu BMVYV a BWYV populace v západní Evropě. Sekvencovali čtyřicet izolátů BMVYV a BWYV, především z řepy cukrové a řepky ozimé v oblasti 1 100 nt, která zahrnuje geny obalového proteinu 17 kD, intergenového regionu a polymerázy. Byly identifikovány tři skupiny sekvencí. Do první skupiny byly zařazeny izoláty z řepy cukrové z USA a severní Evropy a několik izolátů ze zeli a řepky. Druhá skupina obsahuje pouze izoláty z řepky ozimé a třetí skupina izoláty viru z řepy cukrové původem z Itálie a Íránu. Jednotlivé izoláty viru z plevelů náleží do všech tří skupin. Intergenový region je nejvíce variabilní, oblast obalového proteinu nejméně. Třetí skupina izolátů se v intergenovém regionu podobá více PLRV než BWYV a v regionu polymerázy je mezi PLRV a BWYV. Obalové proteiny všech čtyřiceti izolátů jsou přinejmenším v 90 % shodné. Izoláty první skupiny z řepy cukrové a řepky ozimé se odlišují pouze v jednom nukleotidu v intergenovém regionu.

Hammond a Kamo (USA) zjistili, že rostliny *Nicotiana benthamiana*, transformované genem obalového proteinu BYMV nebo chimérickými geny BYMV/PVY, projevovaly přinejmenším částečnou odolnost k infekci BYMV a PVY. BYMV/PVY chiméry projevovaly také určitou rezistenci k TuMV. Rezistence transgenních rostlin k řadě dalších virů, a především rostlin bramboru k X nebo Y viru bramboru byla prezentována v řadě posterů. Taylor et al. (Velká Británie) dokazují úlohu proteinů inaktivujících ribozomy (RIPS) jako antivirální agens. Předpokládá se obranná úloha těchto proteinů v rostlinách a skutečnost, že jsou inhibitory replikace virů. Za tím účelem jsou tabákové rostliny transformované RIPS geny analyzovány na rezistenci k virům.

V pracovní skupině Mechanismus přenosu rostlinných virů vektory a v posterrech k tomuto tématu byly prezentovány tyto nejdůležitější výsledky:

Palukaitis et al. (USA) prokázali, že odlišná účinnost přenosu různých kmenů viru mozaiky okurky mšicemi *Aphis gossypii* a *Myzus persicae*, resp. nízká účinnost přenosu kmenu M-CMV je dána několika alteracemi aminových kyselin v genu obalového proteinu CMV. Konstruovali proto cDNA klon M-CMV RNA 3, provedli výměnu segmentů s cDNA Fny-CMV RNA 1 a 2 do *Nicotiana tabacum* nebo *N. clelandii* a měřili frekvenci přenosu mšicemi. Raccach et al. (Francie) prokázali, že mutace v pomocném komponentu (HC) genu viru žluté mozaiky cukini (ZYMV) ovlivňují přenosnost viru mšicemi. Gray et al. (USA) studovali bariéry přenosu viru žluté zakrslosti ječmene (BYDV) v mšicích. Buněčné bariéry regulující přenos luteoviru byly zkoumány pro pět izolátů BYDV přenášených jedním nebo několika z pěti druhů mšic. Přenos mšicemi regulují v příslušné slinné žláze (ASG) dvě odlišné bariéry. Viriony BYDV selektivně váže a koncentruje bazální lamina (BL), fibrilní prezervatikum exkretované slinnou žlázou s funkcí podpůrného pletiva a filtru.

Pirone et al. (USA) provedli analýzu mutací genů potyvru, které regulují přenosnost mšicemi. Pro přenos potyvru mšicemi je potřebný nejen virion s obalovým proteinem, ale i virem kódovaný nestrukturální protein „helper component“. Brault et al. (Francie) prozkoumali agroinfekci jako způsob studia přenosu viru západní žloutenky řepy. BWYV může být do hostitele introdukován pomocí *Agrobacterium tumefaciens* obsahujícího Ti plasmid. Van den Heuvel et al. (Holandsko) identifikovali z *Myzus persicae* tři proteiny vázané k viru svinutky bramboru. Proteiny s kapacitní vazbou na PLRV nebyly zjištěny v molicích, např. *Bemisia tabaci*. Jolly a Mayo (Skotsko) zkoumali příčiny špatné přenosnosti dvou skotských izolátů PLRV mšicemi. Zjistili, že příčinou je pouze jedna nebo několik málo změn sekvencí aminokyselin ve virových proteinech. Maiss et al. (Německo) sledovali vliv sekvencí obalového proteinu na přenosnost izolátů viru šarky švestky mšicemi. Použili přitom izolát mšicemi přenosný a izolát PPV mšicemi nepřenosný. Po přípravě chimerických konstruktů genů obalového proteinu zjistili, že pro přenos viru mšicemi je nutná přítomnost pomocného komponentu. Canto et al. (Španělsko) prokázali, že izoláty PPV nepřenosné mšicemi je možné mšicemi přenést po přidání pomocného komponentu získaného z rostlin infikovaných Y virem bramboru. Tsagris et al. (Řecko) izolovali ze stromů broskvoně kmen PPV přenosný mšicemi, izolovali RNA a syntetizovali cDNA celého genomu PPV. So Iu Young et al. (Jižní Korea, Japonsko) prokázali výskyt viru mírné mozaiky ječmene, přenosného houbou *Polymyxa graminis*, v Jižní Koreji. Piazzolla et al. (Itálie) identifikovali nový closterovirus přenosný půdou. Virus infikoval rajče, *Chenopodium quinoa*, *Nicotiana benthamiana* a *N. occidentalis*. Virus má částice 1 000 až 1 200 nm spojené s inkluzními tělísky typickými pro closteroviry. Bliefernicht et al. (Německo)

sledovali epidemiologii proliferace jabloně způsobené MLO. Výskyt proliferace jabloně silně vzrostl v roce 1992, na některých plantážích na 20 až 40 %. Onemocnění přenáší kříš *Fiebertiella florii* (Stal) a přítomnost MLO v křísech z infikovaných sadů byla zjišťována pomocí PCR.

V pracovní skupině a posterech **Interakce a satelitismus rostlinných virů** byly prezentovány tyto nejdůležitější výsledky:

Palukaitis et al. (USA) zjišťovali vztah CMV a satelitních sekvencí zahrnutých v potlačení replikace satelitu v okurkovitých hostitelích. Pracovali se třemi odlišnými satelity CMV a zjistili, že účinnost replikace je ve vztahu ke kmenu viru. Garcia-Arenal et al. (Španělsko) identifikovali determinanty pro pohyb satelitní RNA/CMV v infikovaných rostlinách. Sat RNA je při replikaci, pohybu v infikovaných rostlinách, enkapsidaci a přenosu závislá na CMV. Dodds a Kurath (USA) zjistili efekt křížové ochrany mezi satelity TMV v tabáku infikovaném TMV. Gibbs et al. (Velká Británie, Austrálie) prokázali, že přenos „umbraviru“ strakatosti mrkve (carrot mottle virus) mšicemi závisí na pomoci luteoviru, carrot red leaf viru. Miller et al. (USA) prokázali existenci satelitní RNA luteoviru žluté zakrsllosti ječmene. Replikaci satelitní RNA BYDV provedli v protoplastech ovsa. Fritsch et al. (Francie) zkoumali úlohu 48 K proteinu viru černé kroužkovitosti rajčete kódovaného satelitní RNA. Kuwata et al. (Japonsko) identifikovali novou satelitní RNA CMV, která vyvolává žloutnutí a nekrózy na tabáku. Darros a Flores (Španělsko) prokázali existenci satelitní RNA viru strakatosti karafiátu. Watson a Falk (USA) zjistili, že těžké onemocnění mrkve v Kalifornii, carrot motley dwarf, je způsobeno koinfekcí dvěma viry, carrot red leaf virus a carrot mottle virus.

V pracovní skupině a posterech **Variace a mini-evoluce rostlinného viru** byly prezentovány tyto nejdůležitější výsledky:

Dale et al. (Austrálie) prokázali, že banana bunchy top virus je multikomponentní ssDNA izometrický virus, pravděpodobně člen nové skupiny virů. Garcia-Arenal et al. (Španělsko) dokazují, že multipartitismus se v RNA virech vyvinul jako forma sexu, pokud vysoký poměr mutací v RNA je předpokladem nezbytnosti sexu. Multičásticové genomy se vyvíjejí proto, že menší RNA molekuly jsou favorizovány selekcí. Miranda et al. (Kostarika, Anglie) provedli sekvenční analýzu RNA 3 tenuiviru rice hoja blanca. Genom tenuivirů obsahuje čtyři až pět ssRNA druhů a do této skupiny patří i virus pruhovitosti kukuřice, maize stripe virus. Geske et al. (USA) zjistili, že virus bronzovitosti rajčete není monotypovým taxonem, jak se předpokládalo, ale prokázali značnou diverzitu mezi izoláty, které je možné rozdělit do sérologických skupin. Beyer et al. (USA) provedli analýzu sekvencí RNA 3 viru mozaiky jabloně. Lister et al. (USA) zkoumali příbuznost dvou izolátů SGV

sérotypu BYDV s dalšími sérotypy. SGV izoláty BYDV mají 95 % identity, avšak jen 69 % identity s MAV a PAV sérotypy a 52 % se sérotypem RPV BYDV. Jelkman a Maiss (Německo) zjistili, že organizace genomu apple stem pitting viru je příbuzná potex- a carlavirům. Virus je rouben a mechanicky přenosný na *Nicotiana occidentalis* 37B, tyčinkovité částice obsahují ssRNA a dsRNA a virus nepatří k žádné ze známých skupin virů. Romero et al. (Španělsko) analýzou genů obalového proteinu kmenů viru obecné mozaiky fazolu prokázali, že kmeny indukující nekrózy (sérotyp A) jsou odlišným virem, bean necrotic mosaic virus, zatímco kmeny nevyvolávající nekrózy (sérotyp B) mohou být seskupeny s dalšími potyviry infikujícími leguminózy. Shukla et al. (Austrálie, USA) na základě vlastností obalového proteinu navrhuje považovat virus mozaiky hrachu a virus mozaiky bílé lupiny za kmeny viru žluté mozaiky fazolu. Shukla et al. (Austrálie) dokazují, že diverzita sekvencí oblasti N-terminálu obalového proteinu potyvírů by mohla být důležitým faktorem v evoluci nových druhů potyvírů s novými hostiteli.

V pracovní skupině a posterech Viroidy byly prezentovány tyto nejdůležitější výsledky:

Bar-Joseph (Izrael) zjistil, že v zakrsých stromech citrusů je možné identifikovat přinejmenším pět viroidů citrusů. Inokulací stromů viroidy je možné dosáhnout efekt zakrslosti. Tsagris et al. (Řecko) identifikovali protein vázaný na RNA viroidu vřetenovitosti hlíz bramboru a nazvali ho viroid-binding protein 1 (Vip 1). Sekvencováním cDNA klonu Vip 1 zjistili vysoký stupeň podobnosti sekvencí s nedávno objeveným lidským Tat-binding proteinem (TBP-1), který má úlohu během infekce virem HIV. Fels a Riesner (Německo) studovali replikaci viroidu v nukleárních extraktech z buněčných kultur. Viroidy jsou replikovány mechanismem kolébavého kruhu. V *in vitro* buněčném systému *Solanum demissum* byl testován vliv strukturálních elementů na transkripci PSTVd. Thiel et al. (Německo) zjistili interakci PSTVd s nukleární RNA hostitele, signifikantní afinitu PSTVd RNA k ribozomální RNA hostitele. Elena et al. (Španělsko) provedli statistické vyhodnocení rekombinačních událostí v evoluci viroidů a zjistili, že rekombinace mohou vysvětlit genezi nových viroidů v rámci rodu, nelze stanovit pravidla pro rekombinační události mezi rody a existují viroidy, které nemohou být vysvětleny jako konsekvence rekombinací mezi dříve existujícími druhy.

V pracovní skupině a posterech Pokrok v technikách rostlinné virologie byly prezentovány tyto nejdůležitější příspěvky:

Hamada et al. (Japonsko) prezentovali techniku multi-RIPA jako zlepšený rychlý imunotest na filtračním papíru pro současnou detekci odlišných rostlinných virů. V této rychlé a citlivé metodě detekce rostlinných virů se používají proužky

filtračního papíru a dva typy latexových částic potažené protilátkami (bílý a barevný latex). Balász et al. (Maďarsko) prezentovali neradioaktivní hybridizační test dvojitého sendviče pro detekci viru šarky švestky. RNA sonda byla značena digoxigeninem. Neradioaktivní detekční systém je mnohem citlivější než konvenční metoda ELISA. Candresse et al. (Francie) vyvinuli PCR detekční test pro virus šarky švestky (PPV) a virus chlorotické skvrnitosti jabloně (ACLSV). Krok imunokaptury (IC) je prováděn přímo ve zkumavce použité pro RT-PCR. Může tak být stanoveno 2 000 částic viru ve vzorku šťávy z rostlin, což je 2 000krát vyšší citlivost než má stávající metoda ELISA. Maiss et al. (Německo) prezentovali výsledky specifické detekce viru šarky švestky protilátkami směřovanými k syntetickému oligopeptidu. Protilátky byly připraveny jako polyklonální v králících. Richter et al. (Německo) použili v nepřímé metodě ELISA monoklonální protilátky a polyklonální antisérum se širokou afinitou, které reagovalo s více než 20 odlišnými poty viry, včetně PVY v bramboru. Rabenstein a Richter (Německo) připravili monoklonální protilátky proti viru žloutenky řepy pro diferenciaci kmenů viru. Řada posterů prezentovala výsledky detekce virů pomocí PCR, např. viru bronzovitosti rajčete, Fiji disease reoviru, viru svinutky bramboru, viru nekrotické žluté žilkovitosti řepy, viru roncetu révy vinné. Petržík et al. (Česká republika) prezentovali výsledky PCR amplifikace genu viru mozaiky kvěťáku za účelem detekce viru žilkovitosti jahodníku.

Nové úpravy v taxonomii rostlinných virů prezentované na IX. Virologickém kongresu v Glasgowě budou zveřejněny v samostatném příspěvku.

Spolu se dvěma přednáškami plenárních zasedání bylo na IX. Mezinárodním virologickém kongresu v Glasgowě prezentováno celkem 358 příspěvků, které znamenají další pokrok ve všech oblastech výzkumu rostlinných virů a především v molekulární diagnostice a získávání odolných transgenních rostlin.

Materiály z IX. Mezinárodního virologického kongresu jsou k nahlédnutí ve VÚRV Praha-Ruzyně u autora příspěvku a v Ústavu molekulární biologie rostlin ČAV České Budějovice.

Ing. Jaroslav Polák, DrSc.

Výzkumný ústav rostlinné výroby

161 06 Praha 6 - Ruzyně

Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA

Konference Nové diagnostické metody v ochraně rostlin (Wageningen 25. – 28. 1. 1994)

Vedle klasické diagnostiky škodlivých činitelů, při níž jsou využívány především metody hodnotící morfologické a fyziologické znaky a jejich změny v systému hostitel – patogen, se v posledních letech bouřlivě rozvíjí diagnostika molekulární.

Molekulární diagnostika řeší stejné otázky jako diagnostika klasická, ale k závěrům o přítomnosti patogena v hostiteli dochází studiem vlastností jednotlivých makromolekul pomocí metod používaných v molekulární biologii, imunologii a biochemii. Pomocí těchto metod lze získat daleko přesnější údaje než pomocí metod užívaných v klasické diagnostice, a to především proto, že vedle vysoké specifčnosti a citlivosti nemusí být řešen problém vnějších vlivů působících na systém hostitel – patogen.

Metody v současné době nejvíce využívané a rozvíjené v molekulární diagnostice rostlinných škodlivých činitelů:

- v imunologii jsou nejrozšířenější imunodetekční metoda ELISA, imunohistochemické testy, imunofluorescence a imunodifuze při použití polyklonálních a monoklonálních protilátek;
- v molekulární biologii jsou nejčastěji používány PCR a metody založené na PCR, a to RAPD a AP-PCR;
- v biochemii jsou to plynová chromatografie, HPLC, spektrofotometrie a řada dalších, které jsou i součástí složitých metod užívaných v imunologii či molekulární biologii.

Konference s názvem „New Methods of Diagnosis in Plant Protection“ byla pořádána EPPO ve Wageningen ve dnech 25. až 28. 1. 1994.

Zúčastnilo se jí 160 výzkumných pracovníků z 32 zemí (z ČR bylo přítomno pět pracovníků), bylo předneseno 60 referátů a prezentovány čtyři postery. Konference měla vysokou odbornou úroveň, zúčastnila se jí řada významných vědců.

Program konference byl rozdělen do šesti částí na základě tematického zaměření referátů:

1. Zhodnocení nových metod, jejich využití a význam
2. Využití nových metod v diagnostice hub
3. Využití nových metod v diagnostice bakterií
4. Využití nových metod v diagnostice virů
5. Využití nových metod v diagnostice živočišných škůdců
6. Využití nových metod při zajištění zdravého rostlinného materiálu

V referátech zabývajících se první tematikou byly hodnoceny výhody a nevýhody využívaných metod.

Jako nejdůležitější výhody byly uváděny:

- rychlost, citlivost, specifická a efektivnost;
- možnost detekce těžko identifikovatelných škodlivých činitelů;
- malá citlivost na mutace a metabolické změny v organismech, která umožňuje využít těchto metod jako standardních při diagnostice škodlivých činitelů v jakémkoliv prostředí;
- vhodnost pro přípravu standardních testovacích souprav;
- využitelnost pro certifikaci zdravotního stavu rostlinných produktů.

Jako nejdůležitější nevýhody byly uváděny:

- finanční náročnost při výzkumu možností využití;
- využití těchto metod je v současné době omezeno na poměrně malý okruh škodlivých činitelů;
- při použití PCR je možné využít jen malou část strukturálních prvků pro identifikaci organismu;
- význam jednotlivých (či několika) částí nukleových kyselin sledovaných patogenů je málo známý;
- použití pouze jedné metody může vést k zavádějícím výsledkům, proto jsou nejčastěji využívány imunodetekční metody (několik vedle sebe) a při vzniklých nejasečnostech, nepřesnostech nebo potřebě specifickosti další, jako např. PCR.

V několika referátech byly diskutovány možnosti plošného využití standardních diagnostických metod nebo prezentovány již vypracované systémy plošné diagnostiky nebezpečných onemocnění zemědělských plodin v rozvojových zemích (např. Plant Clinic Expert System).

V referátech zaměřených na druhou tematiku byly prezentovány výsledky těchto metod použitých při detekci a identifikaci houbových patogenů v různých částech hostitelských rostlin:

- imunoenzymatických a imunofluorescenčních testů (např. *Botrytis alii* na cibuli, *Perenospora viciae* na kmenech hrachu, *Septoria* sp. na ozimé pšenici); byly použity poly- i monoklonální protilátky;
- izoenzymové analýzy (kmeny *Fusarium avenaceum*);
- PCR (např. při detekci ras *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* v kultivarech karafiátů s různou hladinou rezistence, identifikaci rezistentních izolátů *Rhynchosporium secalis* k benzimidazolu, rozlišení *Mycosphaerella musicola* od *M. fijiensis*).

V referátech zařazených do třetí skupiny byly prezentovány výsledky metod použitých při detekci a identifikaci patogenních bakterií v hostitelích;

- imunoenzymatických i imunofluorescenčních testů při využití poly- i monoklonálních protilátek (zástupci rodu *Erwinia*);
- analýzy mastných kyselin obsažených ve stěně buněčné bakterií (druhy a subsp. rodu *Erwinia* a *Pseudomonas*;
- PCR (druhy i subsp. rodu *Clavibacter* a *Xanthomonas*);

- více metod (např. při selekci bakteriálních klonů bylo využito imunofluorescence a PCR – byl detekován *pup A* gen u rodu *Pseudomonas*).

V referátech zařazených do čtvrté skupiny byly prezentovány výsledky dosažené při identifikaci a detekci patogenních virů:

- imunoenzymatickými testy za použití poly- i monoklonálních protilátek (např. rozpoznávání Tospovirů;
- elektromikroskopické techniky (předvedeny typické „větrníkové“ replikační figury viru, fotografie Rhabdovirů při použití imunodetekce na řezu rostlinným pletivem;
- PCR (např. pomocí kombinace primerů o různé specifitě byly rozpoznávány Potyviry a Bymoviry na různé systematické úrovni);
- kombinace ELISA a PCR.

V referátech zařazených do páté skupiny byly prezentovány výsledky:

- imunoenzymatických metod při detekci a kvantifikaci nematodů v půdě;
- analýzy hydrokarbonů obsažených v kutikule při identifikaci rostlinných škůdců;
- PCR při detekci a identifikaci mšic.

V referátech zařazených do šesté skupiny byly uvedeny výsledky:

- komplexního stanovení zdravotního stavu osiva hrachu – CEC program vypracovaný ve výzkumných pracovištích Holandska, Velké Británie a Francie (souběžně diagnostikovány virové, bakteriální a houbové patogeny);
- metod využitých při certifikaci zdravého rostlinného materiálu (vinná réva a tabák).

V závěru této části zaznělo i několik referátů, které informovaly o způsobech diagnostiky škodlivých činitelů v zemích, v nichž možnost rozvíjení nových diagnostických metod je v současné době omezena (Rumunsko, Brazílie, Namibie).

Poznatky získané na konferenci byly významné a inspirující. Jaké závěry tedy plynou pro český zemědělský výzkum a zkušebnictví? Časná a přesná diagnostika onemocnění rostlin je základní složkou systému obchod – plodina. Jednotlivé choroby rostlin mohou být v tomto systému rozpoznávány daleko efektivněji v časném stadiu, a to především pomocí moderních, specifických, rychlých a citlivých metod. Mělo by tedy být v nejvlastnějším zájmu zodpovědných institucí využívat v České republice co nejdříve pro diagnostiku rostlinných škodlivých činitelů moderní metody umožňující přípravu standardních testovacích souprav, které obstojí v souboru mezinárodních požadavků kladených na zdravotní stav zemědělských produktů.

RNDr. Jiřina Krátká, DrSc.

NEKROLOG

RNDr. Václav Hertv, CSc. – in memoriam



Tento svědomitý, pilný, nadevše čestný a laskavý pracovník fytopatologického výzkumu zemřel po krátké zákeřné nemoci 9. října 1993 ve věku 73 let. Fytopatologii se věnoval téměř čtyři desítky let a většinu této doby byl spolupracovníkem akademika Ctibora Blatného, s nímž prožíval horší i lepší časy tohoto oboru a publikoval s ním také 13 teoretických i praktických prací. Celkový výčet uveřejněných prací je ovšem daleko širší; plnou bibliografii (1942 - 1980), uvedl v medailonku k jeho šedesátinám dr. J. Brčák v časopise *Preslia*

(1981). Dr. Hertv uveřejnil několik vzpomínek na své kolegy: akademika Blatného (*Česká mykologie* 1979), ing. J. Pozděnu (1983), dr. J. Brčáka (1984) a k padesátinám dr. Zdenko Poláka (1983), vesměs v časopise *Ochrana rostlin*. Tam vyšla v roce 1986 i jeho poslední odborná práce (spolu s M. Hanušovou) o rajčatech napadených virem mozaiky tabáku. Kromě výsledků své výzkumné vědecké činnosti uplatnil dr. Hertv ve svých příspěvcích i své zkušenosti v praktické ochraně rostlin. Jeho práce našly i mezinárodní ohlas – zejména jeho studie o vlivech stepního a vysokohorského prostředí na šíření virů brambor v Rumunsku, za niž získal v roce 1963 hodnost kandidáta biologických věd.

Václav Hertv se narodil 28. září 1921 v Novém Bohumíně. Zde získal základní i střední vzdělání, ale reálku dostudoval v roce 1941 v Praze, kam rodina musela přesídlit v důsledku nacistické okupace. Po uzavření vysokých škol za války nemohl pokračovat ve studiu, a proto nastoupil hned po maturitě jako bezplatný volentér do Ústavu pro ochranu rostlin, který byl součástí Státních výzkumných ústavů zemědělských v Praze. Po reorganizaci SVÚZ v roce 1950 přešel nakrátko do Výzkumného ústavu ovocnářského v Holovousích, ale již v roce 1951 se vrátil do Prahy, aby pomáhal dr. C. Blatnému budovat nově založené fytopatologické oddělení Ústředního ústavu biologického. Tomuto pracovišti, jež se stalo po založení ČSAV v roce 1952 součástí Ústavu experimentální botaniky, zůstal dr. Hertv věrný až do odchodu do důchodu. V kolektivu svých spolupracovníků byl vždy oblíben pro svoji serióznost.

nost a dobrou povahu. Obětavě se věnoval i své rodině, v níž nacházel spolehlivou podporu pro svou práci.

Vědecká erudice Václava Herverta měla kořeny v hlubokém zájmu o přírodu, zejména o botaniku, ale i ornitologii a entomologii, které mu zůstaly jako odborné koníčky až do stáří. Vysokoškolské vzdělání získal již jako zkušený praktik a výzkumník v roce 1959 externím studiem oboru mykologie a fytopatologie na přírodovědecké fakultě Karlovy univerzity v Praze. Jeho první publikované práce (společně s C. Blatným a dalšími spolupracovníky) byly věnovány pokusům s hubením svilušky ovocné (1942 až 1943), další se zabývaly mořením pšenice proti sněti prašné (1946) a uměle vyvolanými pupenovými mutacemi u bramboru (1948). V letech 1952 až 1960 se V. Hvert intenzivně zabýval výzkumem padlí jabloňového, od roku 1953 se však objevují stále častěji i příspěvky virologické, zejména o virózách brambor. Pro Baudyšovu *Zemědělskou fytopatologii* (1962) zpracoval kapitulu *Bakteriomykózy a mykózy jaderovin* a v roce 1963 vydal spolu s J. Pozděnou publikaci *Choroby a škůdci obilnin*. V 70. letech studoval spolu s V. Kazdou napadení okurek houbou *Corynespora melonis*. Samostatné příspěvky o některých mykózách obilnin, zelenin apod. svědčí o širokém záběru výzkumné činnosti, která vždy pohotově reagovala na potřeby praktické ochrany rostlin. Pozdější virologické práce – většinou již týmové – byly věnovány hlavně viru mozaiky okurky; určitou kuriozitou byla práce o virové proliferaci houby penízovky sametonohé (*Flammulina velutipes*) s poznámkami o virózách vyšších hub (1977).

Kromě vlastní publikační činnosti uplatňoval dr. Hvert výsledky své vědecké práce i v pravidelné účasti na celostátních konferencích ochrany rostlin a na konferencích čs. rostlinných virologů i na dalších podobných akcích, kde navazoval četné osobní kontakty s našimi i zahraničními vědeckými pracovníky.

Nám všem, kteří jsme ho znali a měli rádi, jistě nevymizí z paměti jeho usměvavá tvář a dobrá, skromná povaha.

RNDr. Ludvík Helebrant



Neúnavná a nesmírně pilná pracovnice fytopatologického výzkumu i praktické ochrany rostlin ing. Věra Nováková, CSc., zemřela náhle 17. listopadu 1993 ve věku 70 let. Téměř do poslední chvíle dojížděla alespoň několikrát týdně ze svého domova v Praze-Kobyliších do Průhonic, kde byla v posledních deseti letech zaměstnána v zahradnickém výzkumu. Nemohla se rozloučit se svou prací, kterou měla stejně ráda jako svou jedinou dceru, z které vychovala svou nástupkyni ve výzkumné práci.

Věra Nováková se narodila 13. dubna 1923 v Praze, kde prožila celý svůj život. Po ukončení studia na Vysoké škole zemědělské v Praze v březnu 1948 byla velmi krátce zaměstnána v Národním pozemkovém fondu, ale již od července téhož roku pracovala v oddělení ochrany rostlin Výzkumných ústavů zemědělských v Praze-Dejvicích. Fytopatologii se věnovala celý život, a to vždy v úzké návaznosti na potřeby a problémy praktické ochrany rostlin, v níž se velice zasloužila nesčetnými přednáškami, instruktážemi na školeních i mnoha články v odborném tisku, v nichž seznamovala veřejnost s výsledky výzkumu a se svými bohatými zkušenostmi.

V letech 1951 až 1955 pracovala ing. Nováková ve Výzkumném ústavu okrasného zahradnictví v Průhonicích, tehdy ovšem za mnohem skromnějších podmínek než při svém druhém působení (1983 - 1993). Mezitím byla od roku 1955 téměř po tři desetiletí zaměstnána v Ústředním kontrolním a zkušebním ústavu zemědělském, kde byla jednou z předních pracovnic oblastní fyto karanténní stanice v Praze. Zde jsem se stal v období 1960 až 1962 jejím kolegou a poznal jsem její houževnatou, poněkud svéráznou, přímou a upřímnou povahu a mohl jsem sledovat její cílevědomou a pilnou práci. Již tehdy se věnovala intenzivně pokusům s použitím herbicidů v zemědělství a v zahradnictví a jejich výsledky ihned prosazovala do praxe. Dokázala navázat styky s československými i zahraničními výrobci herbicidů i ostatních pesticidů, získávala přípravky pro své zkoušky a prováděla každoročně desítky pokusů.

V roce 1968 se začala připravovat na vědeckou aspiranturu. I když složila všechny zkoušky a odevzdala kandidátskou disertační práci, nebyla jí z politických důvodů

povolena obhajoba. Aspirantura jí byla uznána až v roce 1990 a byl jí udělen titul kandidátky věd. Bylo to opožděné zadostiučinění za její celoživotní snažení a píli.

Když jsme se v roce 1983 opět setkali na společném pracovišti ve VÚOZ v Průhonicích, vrhla se Věra – ač již v důchodovém věku – s neztenčeným elánem do nových úkolů při řešení boje proti plevelům pomocí herbicidů jak při pěstování okrasných rostlin, tak při údržbě trávníků a výsadeb zeleně. Opět intenzivně propagovala výsledky svého výzkumu v řadě článků především v časopisech *Zahradnictví* a *Zahradkár* a ve sbornících ze školení a seminářů, které sama pomáhala organizovat. Z nich mohu jmenovat alespoň některé: *Sborník symposií Zeleň a životní prostředí* (1985), *Nové směry v boji proti plevelům, škůdcům a chorobám v okrasných školkách a ve veřejné zeleni* (Gottwaldov 1986), sborníky ze školení *Fytopatologie okrasných rostlin* (Průhonice 1988) a *Boj proti plevelům ve veřejné zeleni* (Brno 1990).

Značný ohlas a zájem fytopatologů i praktických zahradníků z celé republiky vzbudila její brožura *Herbicidey pro okrasné rostliny a dřeviny*, která vyšla v roce 1986 v edici *Aktuality VŠÚOZ v Průhonicích* a byla záhy rozebrána. Zájem o její práci byl pro ni tou největší odměnou.

Všichni její kolegové z ústavu, dřívější spolupracovníci i početní posluchači přednášek a školení i čtenáři jejich příspěvků si jistě uchovají na ni trvalou vzpomínku.

RNDr. Ludvík Helebrant

QUADRASPIDIOTUS PERNICIOSUS (COMSTOCK)

Synonyma: *Aspidiotus perniciosus* Comstock; *Diaspidiotus perniciosus* (Comstock)

Štítěnka zhoubná, červec San José

Národní názvy: anglicky – San José scale, California scale; německy – San José-Schildlaus; francouzsky – Pou de San José, cochenille de San José; rusky – kalifornská ščítovka; španělsky – Piojo de San José



1. Napadení větve jabloně



2. Jablko se štítky červce

Hostitelé: Polyfág zjištěn na více než 200 druzích rostlin. Kulturní rostliny: jabloň, broskvoň, meruňka, hrušeň, švestka, rybíz, réva vinná, kdouloň, ořešák, jahodník; dále na druzích rodů *Accacia*, *Betula*, *Euonymus*, *Fagus*, *Fraxinus*, *Ligustrum*, *Maclura*, *Populus*, *Ptelea*, *Rosa*, *Salix*, *Sorbus*, *Symphoricarpus*, *Syringa*, *Tilia*, *Ulmus* a další.

V České republice zjištěna na jabloni, broskvoni, meruňce, hrušni, švestce, kdouloni, hlohu, třešni, višni, ořešáku, jahodníku, angreštu, rybízu, lísce, jeřábu, růži, skalníku, topolu, vrbě, vavřínu, lípě, platanu, bříze, svíde, jasanu, moruši, trnovníku, bezu, citroníku, pomerančovníku, aukubě, šeríku a tuji.

Geografické rozšíření: Kosmopolitní rozšíření na území vhodném pro vývoj dvou generací. Evropa; Asie (Afganistan, Čína, Indie, Írán, Irák, Japonsko, Korejské republiky, Nepál a Pákistán); Afrika (Alžírsko, Maroko, Jižní Afrika, Zair, Zimbabwe); Severní a Jižní Amerika, Kanada, Mexiko, USA, Kuba, Austrálie a Nový Zéland. Rozšíření v ČR: okresy Litoměřice, Olomouc, Přerov, Brno, Břeclav, Hodonín, Kroměříž, Prostějov, Uherské Hradiště, Vyškov, Zlín a Znojmo.

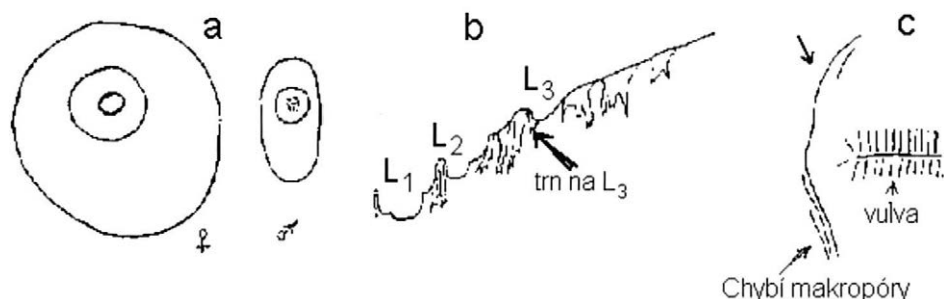
Bionomie: Polyfágní 1 až 2 mm veliký červec. Rozmnožování pohlavní i partenogenetické, výrazný pohlavní dimorfismus, samci okřídlení - žijí krátce, samičky živorodé - žijí trvale přísáté na jednom místě. Pohyblivé stadium I₁ do doby až 24 h po vylíhnutí. Samice rodí 50 až 400 larev v průběhu 42 až 56 dnů. V ČR 1 až 4 generace do roka. Vývojová stadia: samice dva larvální instary (I₁I₂), imago (I₃), samec 2 larvální instary,

prepupa, pupa, imago. Vývoj jedné generace trvá 30, 42 až 60 dnů při teplotách 20 - 21 °C, 25 - 26 °C a 31 - 32 °C. Teploty 31 - 32 °C usmrcují L_1, L_2 , teploty 39 - 40 °C zastavují vývoj samic. Snáší teploty do -30 °C.

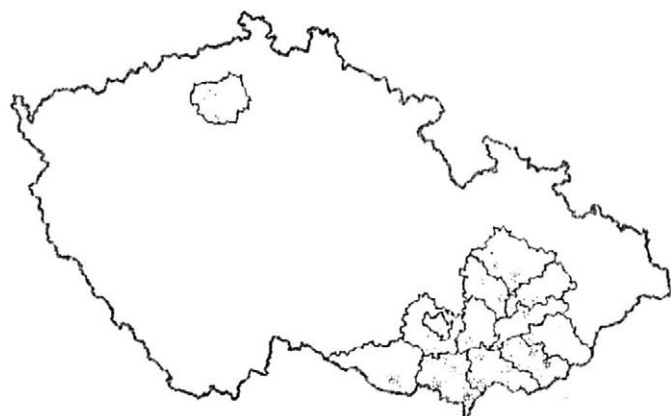
Hospodářský význam: Štítenka zhoubná způsobuje oslabení a snížení odolnosti napadených rostlin, dále prosychání korun, snížení přírůstků dřeva, zhoršení vyzrávání letorostů před zimou, zasychání pupenů, defoliaci, napadené plody jsou nekvalitní. Při silném napadení hostitelské rostliny odumírají.

Způsob zavlékání: Školkařským materiálem, možný je přenos plody, větrem, hmyzem a ptáky.

Determinace: Na kůře jsou slabě vypouklé téměř centrické šedé, šedobílé až žlutohnědé štítky červců. Pro ověření nálezů je vhodné použít silnější lupu nebo lépe stereo-mikroskop. Kambium po seříznutí kůry je fialové (nespecifický příznak). Na plodech se vytváří okrouhlé až oválné červené a hnědočervené skvrnky uprostřed se štítkem samice. Štítky samic jsou okrouhlé šedé, štítky samců jsou podlouhlé. Pro určení štítenky zhoubné je nezbytný mikropreparát zadního okraje zadečku. Na laloku L_3 je vždy zřetelný trn. Makropóry na hřbetní straně pygidia chybí (umístění chybějících makropór je označeno šipkami).



a - štítek samice a samce; b - pygidium s trnem na laloku L_3 ; c - hřbetní strana pygidia



Rozšíření v České republice

GLOBODERA ROSTOCHIENSIS WOLLENWEBER *GLOBODERA PALLIDA* STONE

Synonyma: *Heterodera rostochiensis* Wollenweber
Heterodera pallida Stone

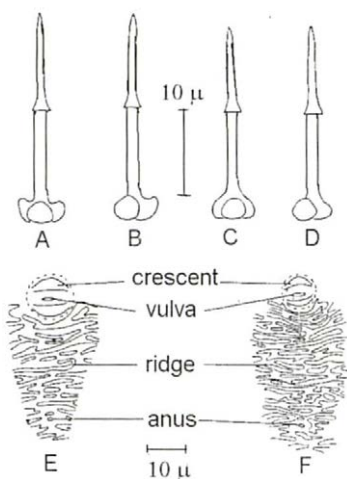
Háďátko bramborové

Háďátko světlé

Národní názvy: *G. rostochiensis*: anglicky – Yellow potato cyst nematode, golden potato cyst nematode; německy – Kartoffelnematode; francouzsky – Nématode doré de la pomme de terre; rusky – kartofelnaja cistoobrazujuščaja nematoda; španělsky – Nematodo dorado
G. pallida: anglicky – White potato cyst nematode, pale potato cyst nematode; německy – Weißkartoffelnematode; francouzsky – Nématode blanc de la pomme de terre



1. Cysty háďátka bramborového
na kořenech bramboru



A, B, E - *G. pallida*
C, D, F - *G. rostochiensis*

2. Stylety larev 2. stadia a skulptura na kutikule
v oblasti perinea (S t o m e, 1975, Bull. EPPO)

Hostitelé: kulturní rostliny - brambor, rajče, lilek vejcoplodý (baklažán); plevely - *Solanum nigrum* L., *S. dulcamara* L. a další druhy z čeledi lilkovitých.

Rozšíření: *G. rostochiensis* - Evropa; Střední východ; Afrika: severní a jižní; Asie: Indie, Japonsko; Severní Amerika, Filipíny, Střední a Jižní Amerika, Austrálie.
V ČR převážně na pozemcích drobných pěstitelů.

G. pallida: západní a severní Evropa včetně Islandu; Asie: Indie; Austrálie: N. Zéland; Severní Amerika: Newfoundland; Jižní Amerika: oblast And. V ČR nezjištěno.

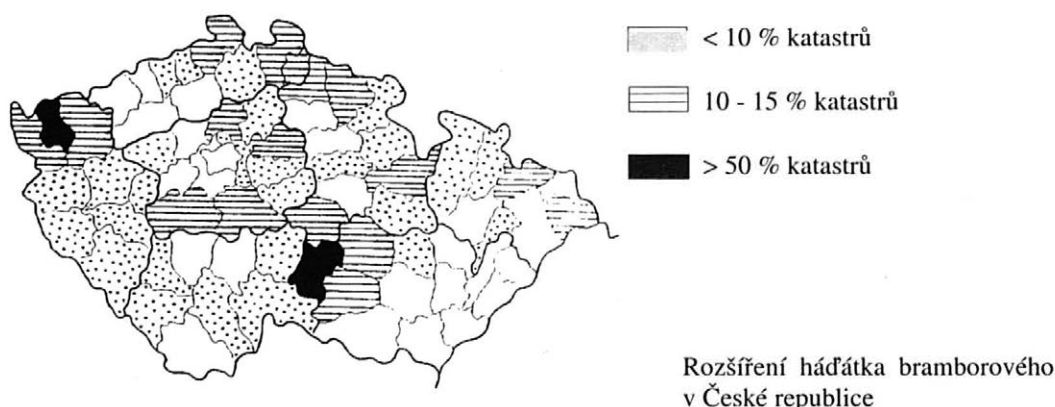
Bionomie: Larvy 2. stadia opouštějí cysty spontánně nebo pod vlivem kořenových výměšků a napadají kořeny hostitelských rostlin. Dospívající samice protrhávají stěny kořenů a postupně se mění v cystu. Červovití samci opouštějí kořeny, vyhledávají samice, páří se a záhy hynou. V pletivech kořenů žijí další dvě larvální stadia až po dospělce.

Samice zůstávají hlavovou částí přichyceny v pletivech kořene a v jejich tělech přetvořených v cystu se vyvíjejí vajíčka. Cysta má zprvu bílé, později žluté a přes skořicově hnědé až po smolně hnědočerné zbarvení. Takto probíhá zbarvení cyst u druhu *G. rostochiensis*, druh *G. pallida* se vyznačuje absencí tzv. „žluté fáze“. Doba vývoje larev trvá v závislosti především na teplotě 8 až 12 týdnů. Cysta tvoří ochranný obal zhruba 200 až 400 embryonů; uvolňuje se z kořene do půdy - zde se mohou larvy ihned líhnout nebo setrvat v dormanci. Larvy 2. stadia se mohou vyvíjet a následně opustit cystu postupně. V našich podmínkách mají háďátka bramborové a háďátka světlé jednu generaci za rok. Spodní teplotní hranice vývoje je asi 11 °C a horní 32 °C. Cysty představují stadium dlouhodobě zamořující půdu, při absenci hostitelských rostlin na 10 i více let. Oba druhy háďátek vytvářejí agresivní patotypy, které napadají vyšlechtěné odolné odrůdy.

Hospodářský význam: *Globodera rostochiensis* a *G. pallida* jsou nejvážnějšími škůdci brambor. Přímé škody se projevují sníženými výnosy; při silném zamoření pozemku jsou u raných a poloraných odrůd odhadované ztráty 50 až 70 % a u pozdních odrůd 30 %. Hlízy z napadených trsů jsou drobné.

Způsoby zavlékání: Háďátka se šíří převážně pasívně přenosem zamořené zeminy, nejčastěji na hlízách brambor či na podzemních částech výpěstků pocházejících ze zamořených pozemků. Cysty se mohou šířit také kontaminovaným materiálem, např. kompostem.

Determinace: Napadení brambor háďátkem bramborovým a háďátkem světlým nemá v porostu specifické symptomy. Při silné intenzitě napadení se projevuje nižším vzrůstem a menším počtem stonků. Během vegetace napadené rostliny odspodu žloutnou a vadnou. Sáním háďátek se vytváří husté kořenové vlášení, které předčasně odumírá. V porostu se napadení projevuje ohniskovým výskytem zakrslých, žloutnoucích rostlin. Symptomy často nejsou zejména na dobře hnojených pozemcích se slabou nebo střední intenzitou napadení patrné. Průkazným potvrzením zamořenosti pozemku je zjištění cyst na kořenech rostlin. Druhovátá příslušnost háďátka se uskutečňuje mikroskopickým vyšetřením cyst nebo larev. Cysty se získávají extrakcí půdních vzorků, nejčastěji flotační metodou. Zralá cysta *G. rostochiensis* je hnědá, lesklá, cirkumfenestrálního typu. Anus je menší než vulva. Druh *G. pallida* se liší krémově žlutou barvou cysty v průběhu chromatogeneze a též morfologií perineální části cysty a morfologickými znaky larev 2. růstového stupně (obr. 2).



OBSAH – CONTENTS

Polák J.: Distribution of apple mosaic virus in hop gardens of the Czech republic – Rozšíření viru mozaiky jabloně ve chmelnicích České republiky	85
Polák Z.: Tobacco rattle virus isolated from surface waters in the Czech republic – Virus nekrotické kadeřavosti tabáku v povrchových vodách České republiky.	91
Blechtová A.: Contribution to the study of pathogenicity of <i>Cytospora schulzeri</i> Sacc. et Syd. in conditions <i>in vitro</i> – Příspěvek ke studiu patogenity <i>Cytospora schulzeri</i> Sacc et. Syd. v podmínkách <i>in vitro</i>	99
Jurík M., Gallo J., Lebeda A.: Stupeň náchylnosti odrůd hrachu k přenosu viru mozaikového zvinování listů hrachu voškami – Degree of sensitivity of pea varieties to aphid-transmitted pea seed-borne mosaic virus.	107
Veselý D., Koubková D.: Účinek <i>in vitro</i> entomopatogenních hub <i>Beauveria bassiana</i> (Bals.-Criv.) Vuill. a <i>Beauveria brongniartii</i> (Sacc.) Petch na fytopatogenní houby – In vitro effect of the entomopathogenic fungi <i>Beauveria bassiana</i> (Bals.-Criv) Vuill. and <i>B. brongniartii</i> (Sacc.) Petch on phytopathogenic fungi.	113
Háněl L.: Účinky aplikace boverolu (<i>Beauveria bassiana</i>) na půdní hlístice (<i>Nematoda</i>) úhory – Effects of Boverol (<i>Beauveria bassiana</i>) application on soil nematodes (<i>Nematoda</i>) in a fallow	121
Bittner V., Černý M.: Výskyt vrtalky jihoamerické <i>Liriomyza huidobrensis</i> (Blanchard, 1926) na <i>Gypsophila elegans</i> L. – The occurrence of the leafminer <i>Liriomyza huidobrensis</i> Blanchard on <i>Gypsophila elegans</i> L.....	133

KRÁTKÁ SDĚLENÍ

Vančo B.: Vplyv napadnutia rôznych foriem ďateliny lúčnej fuzáriovou koreňovou hnilobou na obsah aminokyselín – Effect of infection by <i>Fusarium</i> root on the amino acid content of different forms of red clover.	141
--	-----

AKTUALITY

Polák J.: Nové poznatky ve výzkumu rostlinných virů prezentované na IX. Mezinárodním virologickém kongresu v Glasgowě (Skotsko) 8. - 13. 8. 1993	147
--	-----

Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA

Krátká J.: Konference Nové diagnostické metody v ochraně rostlin (Wageningen 25. - 28. 1. 1994)	158
---	-----

ŽIVOTNÍ JUBILEA

Táborský V.: Prof. ing. Jaroslav Bartoš, CSc., sedmdesátníkem	146
---	-----

NEKROLOG

Helebrant L.: RNDr. Václav Herverst, CSc. - in memoriam	161
Helebrant L.: Ing. Věra Nováková, CSc. - in memoriam	163



UPOZORNĚNÍ PRO ODBĚRATELE

Od letošního roku zajišťuje veškeré služby spojené s distribucí časopisu Potravinářské vědy vydavatel - Ústav zemědělských a potravinářských informací Praha.

Objednávky na předplatné posílejte na adresu:

Ústav zemědělských a potravinářských informací
referát odbytu
Slezská 7
120 56 Praha 2

Vědecký časopis OCHRANA ROSTLIN ♦ Vydává Česká akademie zemědělských věd a Slovenská akadémia pôdohospodárskych vied – Ústav zemědělských a potravinářských informací ♦ Vychází čtyřikrát ročně ♦ Redaktorka RNDr. Marcela Braunová ♦ Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 02 / 251 098, fax 02 / 257 090 ♦ Sazba a tisk ÚZPI ♦ © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1994.

Rozšiřuje Ústav zemědělských a potravinářských informací, 120 56 Praha 2, Slezská 7