

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH  
INFORMACÍ

# OCHRANA ROSTLIN

## PLANT PROTECTION

4

ROČNÍK 32 (LXIX)  
PRAHA 1996  
ISSN 0862-8645

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

# OCHRANA ROSTLIN PLANT PROTECTION

*Journal for Phytopathology, Pest, Weed  
Research and Plant Protection published by  
the Czech Academy of Agricultural Sciences  
and with the promotion of the Ministry  
of Agriculture of the Czech Republic*

Abstracts from the journal are comprised in Agrindex of FAO (AGRIS database), in Bibliographie der Pflanzenschutzliteratur published by Zentralstelle für Agrardokumentation und -information (Phytomed database), in Biological Abstracts of Biosis (BIOSIS Previews database), and in Review of Agricultural Entomology and Review of Plant Pathology of CAB International Information Services (CAB ABSTRACTS database) and AGROINDEX.

## **Editorial Board – Redakční rada**

Doc. ing. Václav Kůdela, DrSc. (Head of Editorial Board – Předseda)

## **Members of the Editorial Board – Členové redakční rady**

Ing. Petr Ackermann, CSc., Ing. Pavel Bartoš, DrSc., prof. Ing. Václav Kohout, DrSc.,  
doc. Ing. Aleš Lebeda, DrSc., Ing. Jaroslav Polák, DrSc.,  
doc. Ing. Vlastimil Rasocha, CSc., Ing. Vladimír Řehák, CSc.,  
doc. RNDr. Josef Šedivý, DrSc., Ing. Prokop Šmirous, CSc.,  
prof. Ing. Vladimír Táborský, CSc., Ing. Marie Váňová, CSc.

## **Foreign Members of the Editorial Board – Zahraniční členové redakční rady**

Dr. I. R. Crute (Great Britain), Assoc. Prof. Dr. Ján Danko (Slovak Republic),  
Dr. R. S. S. Fraser PhD DSc FIHort (Great Britain), Prof. Dr. K. Hurlé (Germany),  
Assoc. Prof. Dr. Jozef Huszár (Slovak Republic), Dr. J. Nielsen (Canada),  
Prof. A. Novacky, PhD (USA), Dr. Tibor Roháčik (Slovak Republic),  
Dr. F. Virányi (Hungary), Prof. Dr. J. C. Zadoks (The Netherlands),  
Prof. V. Zinkernagel (Germany)

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

RNDr. Marcela Braunová

**Aim and scope:** The journal publishes original scientific papers, short communications, and reviews, that means papers based on the study of technical literature and reviewing knowledge in the given field. Published papers are in Czech, Slovak or English.

**Subscription information:** Subscription orders can be entered only by calendar year and should be sent to the contact address.

Subscription price for 1996 is 178 Kč, 44 USD (Europe) and 46 USD (overseas)

**Periodicity:** The journal is published four times a year.

**Contact address:** Slezská 7, 120 56 Praha 2, Czech Republic

tel.: 42 2 251 098; Fax: 42 2 257 090; E-mail: braun@uzpi.agrec.cz

© Institute of Agricultural and Food Information, Prague 1996 MK ČR 6695

## THE DIAGNOSIS OF *Phytophthora* sp. BY POLYCLONAL ANTIBODIES – OBSERVATION OF ANTIBODIES SPECIFICITY

Jiřina KRÁTKÁ, Blanka KYNĚROVÁ, Svĕtlana SÝKOROVÁ, Marta PODANÁ

Research Institute of Crop Production – Department of Mycology, Prague,  
Czech Republic

**Abstract:** Specificity and sensitivity of polyclonal antibodies prepared after immunization of rabbits with antigens (extracted from mycelial mats of *Phytophthora nicotianae* var. *nicotianae* – PNN) were studied. Antisera and IgG were suitable to detect other *Phytophthora* spp., i.e. *P. cinnamomi*, *P. cactorum*, *P. cryptogea*, and *P. fragariae*; differences between the species were quantitative. The specificity of polyclonal antibodies was increased with saturation of IgG with antigens. There was no increase of polyclonal antibodies specificity and sensitivity after immunization of rabbits with purified PNN antigen or a fraction of proteins. Nor was there a cross-reaction of anti-PNN IgG with antigens of *Fusarium oxysporum*, *Pythium oligandrum*, *P. ultimum*, and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (tomato isolates). Reactions of antisera and IgG with antigens were evaluated by agar double diffusion and ELISA.

polyclonal antibodies; specificity; *Phytophthora nicotianae* var. *nicotianae*; *P. cinnamomi*; *P. cryptogea*; *P. cactorum*; *P. fragariae*; cross-reactions

The preparation of antibodies and their utilization for the diagnosis of phytopathogenic fungi have been studied intensively in the last decades. Some difficulties in the serodiagnostics of microorganisms with a complicated metabolism can be reduced by:

- specific purification of the extracted antigens;
- preparation and utilization of highly specific polyclonal or monoclonal antibodies;
- use of sensitive immunochemical methods which have been still developed in research laboratories of the world.

Immunochemical tests belong to the system of methods that detect phytopathogenic fungi on the basis of explicit parameters. They are a fundamental

premise for standard evaluation of the health state of plants and for the quality of agricultural products.

After having reported on the preparation and characteristics of antigens (Krátká et al., 1995), the aim of the present publication was to evaluate the utilization and specificity of polyclonal antibodies for the determination of *Phytophthora* spp.

## MATERIAL AND METHODS

Antigens were prepared from mycelial mats of *Phytophthora* spp. (*nicotianae* var. *nicotianae* – PNN, *cryptogea* – PCR, *cinnamomi* – PCI, *cactorum* – PCA, *fragariae* – PFR). Mycelium was grown on Hohl's or Erwin-Katznelson's liquid medium. Antigens for the experiments were used unpurified and purified (Krátká et al., 1995). The specificity of antigens was increased by purification (Amouzou-Alladaye et al., 1988), and separation of proteins according to molecular weight (Laemmli, 1970). Permeatic gel filtration on Sephadex G 100, and extraction of parts of gels in PBS after electrophoresis of proteins (Sýkorová, Hadačová, 1992; Krátká et al., 1995) were used. The electro-elution was not used for protein extraction after electrophoresis.

Intramuscular immunization of rabbits (race Činčila velká) was applied with unpurified and purified PNN antigen, PCR antigen or PCI antigen (two rabbits for one antigen). Injection schedule: day 1 (with Freund's complete adjuvant), 14, 21, 28 (all with incomplete adjuvant), 35 (booster). Concentration of proteins per dose 5 mg/ml in all cases. Blood was sampled three times, in weekly intervals.

Reproduction of the quality of antisera (anti-) was evaluated by comparing the reactions of anti-PNN with serum from rabbits before immunization (i.e. control), and a comparison of the reactions of polyclonal antibodies for each rabbit separately. The specificity of anti-PNN was increased by immunizing rabbits with purified antigen, saturating with purified PCR antigen, and immunizing rabbits with protein fractions of purified PNN antigen: Mr < 45 kDa (F1), 45 kDa > Mr < 67 kDa (F2), Mr > 67 kDa (F3). Electrophoresis and permeatic gel filtration were used. IgG was prepared by permeatic gel filtration on DEAE-cellulose. Reactions of PNN antigen, PCR antigen,

*PCI* antigen and *PCA* antigen with antisera were evaluated by agar double diffusion according to Ouchterlony (1968). Reactions of these antigens with IgG were evaluated by agar double diffusion and by ELISA.

Cross-reactions of anti-*PNN*, anti-*PCR* and anti-*PCI* were evaluated by testing tomato isolates against antigens of *Fusarium oxysporum* (*FO*), *Pythium oligandrum* (*PO*), *Pythium ultimum* (*PU*) and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*CMM*). The protein content was determined according to Lawry et al. (1951). Indirect ELISA was performed in polyvinyl 96-microtitre plates (GAMA) and included the following steps:

1. coating of the antigen in a carbonate buffer pH 9,6 overnight at 4 °C or 3 h at 37 °C (100 µl per well);
2. three 5-min washings with washing buffer (PBS-Tween 20);
3. blocking with blocking buffer (0,2% bovine serum albumin (BSA) in washing buffer) 30 min at 37 °C (200 µl per well);
4. three 5-min washings with washing buffer;
5. incubation with anti-*PNN* IgG (1 µg/ml) in blocking buffer for 3 h at 37 °C (100 µl per well);
6. three 5-min washings with washing buffer;
7. incubation with sheep anti-rabbit IgG coupled with alkaline phosphatase 250 mU (Boehringer Mannheim GmbH) in blocking buffer for 3 h at 37 °C (100 µl per well);
8. three 5-min washings with washing buffer;
9. incubation with p-nitrophenylphosphate (1 mg/ml) in diethanolamine buffer pH 9,8 for 1 h at room temperature (100 µl per well);
10. stop reactions by addition of 50 µl of 3M NaOH to each well.

The absorbance was measured with an automatic reader (Dynatech) at 405 nm.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Identification of the genus *Phytophthora*

#### a. Agar double diffusion tests

The anti-*PCR* was the most specific test (immunization of rabbits with unpurified antigen). Reaction with unpurified *PCR* antigen was best, whereas reaction with unpurified *PCI* antigen was very low. Anti-*PCR* did not

react with any other antigen (Table I). The specificity of anti-*PNN* was low. It reacted with all prepared antigens of the genus *Phytophthora* (Table I). The titre of antisera ranged from 1/4 to 1/16.

#### I. Reactions of antisera with antigens (agar double diffusion)

| Antigen    |            | Antiserum |     |     |     |     |
|------------|------------|-----------|-----|-----|-----|-----|
|            |            | A0        | A1  | A2  | A3  | A4  |
| <i>PNN</i> | purified   | 0         | xxx | xx  | 0   | xxx |
|            | inpurified | 0         | xxx | xx  | 0   | xxx |
| <i>PCI</i> | purified   | 0         | xx  | xxx | 0   | xx  |
|            | inpurified | 0         | xx  | xxx | x   | xx  |
| <i>PCA</i> | purified   | 0         | x   | x   | 0   | xx  |
|            | inpurified | 0         | x   | x   | 0   | xx  |
| <i>PCR</i> | purified   | 0         | x   | 0   | xxx | x   |
|            | inpurified | 0         | 0   | 0   | xx  | x   |
| <i>PFR</i> | purified   | 0         | x   | xx  | 0   | xxx |
| <i>FO</i>  | unpurified | 0         | 0   | 0   | 0   | 0   |
| <i>PU</i>  | inpurified | 0         | 0   | 0   | 0   | 0   |
| <i>PO</i>  | inpurified | 0         | 0   | 0   | 0   | 0   |
| <i>CMM</i> | inpurified |           |     |     |     | 0   |

A0 – serum from unimmunized rabbit

A1 – antibodies against inpurified *PNN* antigen (anti-*PNN*)

A2 – antibodies against inpurified *PCI* antigen (anti-*PCI*)

A3 – antibodies against inpurified *PCR* antigen (anti-*PCR*)

A4 – antibodies against purified *PNN* antigen (anti-*PNN*)

xxx – strong reaction

xx – middle reaction

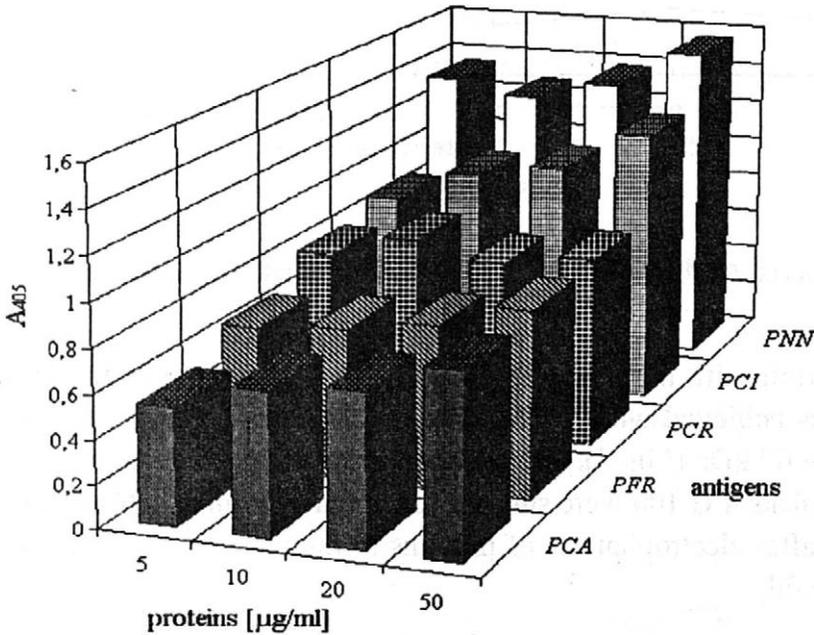
x – weak reaction

0 – no reaction

Positive reactions of anti-*PNN* IgG with antigens of the genus *Phytophthora* were determined: IgG concentration 20 g/ml, and protein concentration in antigens 3–4 g/ml. The concentrations of IgG and antigens in this test were  $10^6$  times higher than concentrations of these reagents in ELISA.

## b. Immunochemical tests

The two immunoenzymatic methods were used for the identification of *Phytophthora* sp. in pure cultures. DAS-ELISA was less specific for detection of the fungus. Reactions of IgG with purified antigens of the genus *Phytophthora* were successfully tested by indirect ELISA (Fig. 1). Optimal

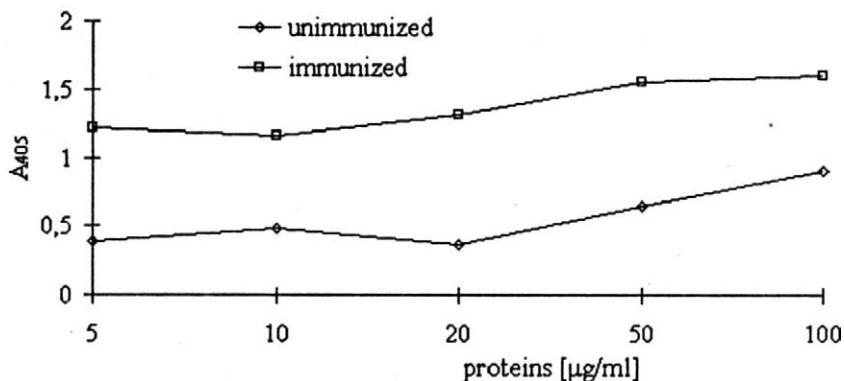


### 1. Reactions of anti-PNN IgG with purified antigens of *Phytophthora* genus

concentrations were determined as follows: anti-PNN IgG 1 µg/ml, anti-rabbit IgG coupled with alkaline phosphatase 250 mU, concentration of proteins in antigens from 1 µg/ml. Anti-PNN IgG reacted with all antigens prepared from *Phytophthora* sp. The differences were quantitative. The lowest positive absorbance was determined on the basis of both reactions – immunized and unimmunized rabbits (Fig. 2).

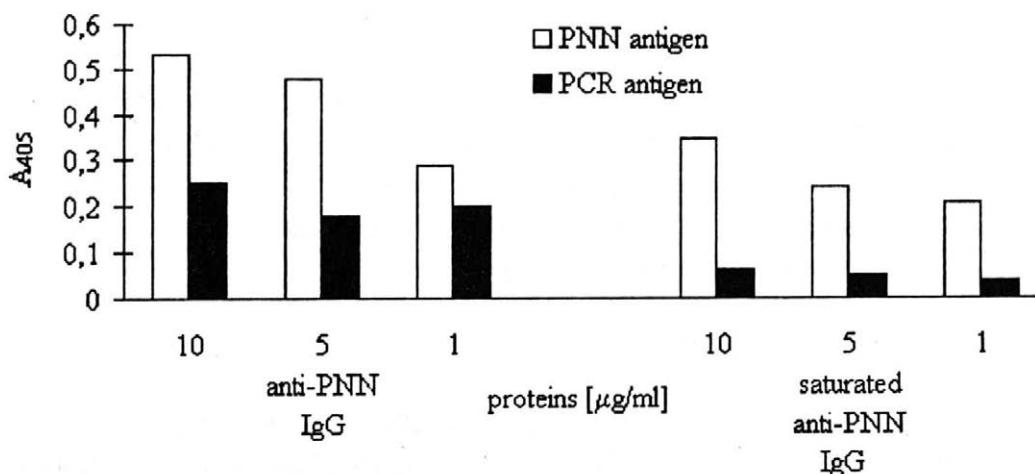
### Increase of antiserum specificity

The specificity of anti-PNN was increased after saturation with PCR antigen, while sensitivity decreased (Fig. 3). Specificity of anti-PNN after immunization of rabbits with purified PNN antigen was lower than after

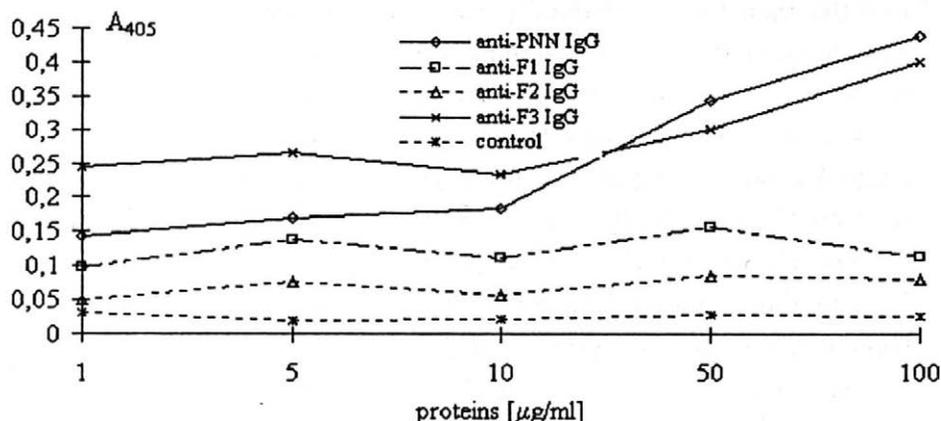


2. Reactions of anti-PNN IgG in comparison with reactions of IgG from unimmunized rabbit

immunization with unpurified PNN antigen. The best immunization of rabbits was achieved with the fraction of proteins of a molecular weight higher than 67 kDa (Fig. 4). The proteins separated by permeatic gel filtration on Sephadex G 100 were suitable for immunization of rabbits. Extracts from gels after electrophoresis of proteins in immunization of rabbits were not successful.



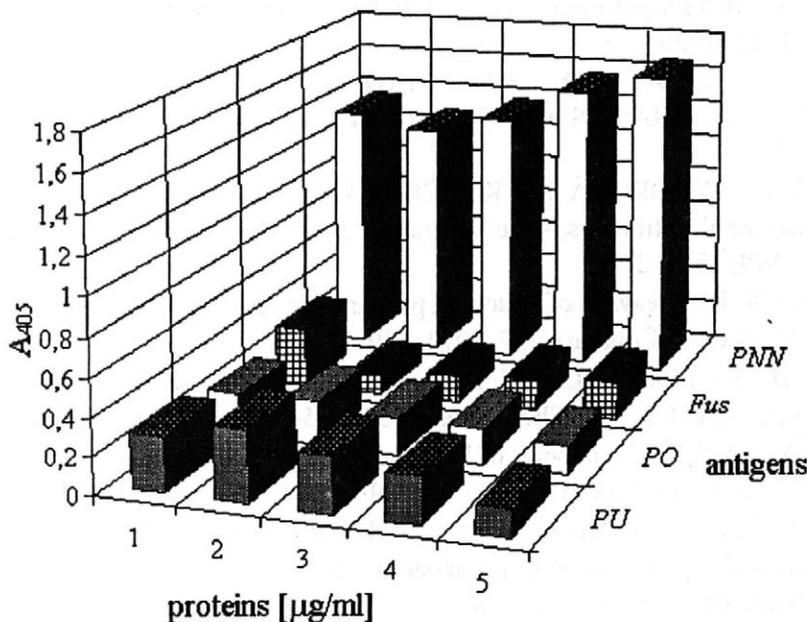
3. Comparison of reactions of saturated versus unsaturated anti-PNN IgG



#### 4. Reactions of purified *PNN* antigen with various IgG. F-protein fraction

##### Cross-reactions

There were no cross-reactions of anti-*PNN* IgG with antigens from fungi and a bacterium isolated from tomato (*PO* antigen, *PU* antigen, *FO* antigen and *CMM* antigen) (Fig. 5).



#### 5. Cross-reactions of anti-*PNN* IgG

From the results we draw the following conclusions:

- Polyclonal antibodies were suitable for detection of the *Phytophthora* genus; differences between species were quantitative. Similar results were achieved by other authors (Dewey et al., 1991).
- There was no increase of antiserum specificity and sensitivity after immunization of rabbits with purified PNN antigen or a fraction of proteins.
- The specificity of anti-PNN was increased after saturation with antigens from another species of the genus *Phytophthora*.
- There were no cross-reactions of anti-PNN IgG with antigens of *Fusarium oxysporum*, *Pythium oligandrum*, *P. ultimum* and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (tomato isolates).

The determination of negative control and limitation of positive reactions will be demonstrated in a further publication (The diagnosis of *Phytophthora* sp. by polyclonal antibodies – detection of pathogen in plants).

### References

- AMOUZOU-ALLADAY, E. – DUNEZ, J. – CLERJEAU, M.: Immunoenzymatic detection of *Phytophthora fragariae* in infected strawberry plants. *Phytopathology*, 78, 1988: 1022–1026.
- DEWEY, M. – EVANS, D. – COLEMAN, J. – PRISTLEY, R. – HULL, R. – HORSLEY, D. – HAWES, C.: Antibodies in plant science. *Acta Bot. Neerl.*, 40, 1991: 1–27.
- KRÁTKÁ, J. – SÝKOROVÁ, S. – KYNĚROVÁ, B.: The diagnosis of *Phytophthora* sp. by polyclonal antibodies – the separation and character of the antigen. *Ochr. Rostl.*, 31, 1995: 81–92.
- LAEMMLI, V. K.: Cleavage of structural proteins during assembly of the head bacteriophage T4. *Nature (London)*, 227, 1970: 680–685.
- LAWRY, H. O. – ROSENBOUGH, N. J. – PARR, A. L.: Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. biol. Chem.*, 193, 1951: 265–275.
- OUCHTERLONY, Ö.: Handbook of Immunodiffusion and Immunoelectrophoresis. Ann Arbor, Michigan, Ann. Arbor. Scient. Publ. 1968.
- SÝKOROVÁ, S. – HADAČOVÁ, V.: Methodical notes to the use of esterase isoenzymes in characterization of spring barley (*Hordeum vulgare*) varieties. *Scientia Agric. bohemoslov.*, 24, 1992: 15–28.

Received October 7, 1996

**Diagnostika *Phytophthora* sp. pomocí polyklonálních protilátek  
– sledování specifčnosti protilátek**

Byly připraveny polyklonální protilátky pro diagnostiku *Phytophthora* sp. a byla sledována jejich specifčnost a citlivost. Laboratorní králíci byli imunizováni antigeny, které byly extrahovány z *Phytophthora nicotianae* var. *nicotianae* (PNN). Získaná antiséra a IgG byly vhodné k detekci hub rodu *Phytophthora* (*P. cinnamomi*, *P. cactorum*, *P. cryptogea*, *P. fragariae*). Rozdíly mezi jednotlivými druhy byly kvantitativní. Specifčnost polyklonálních protilátek byla zvýšena vysycením antigeny. Imunizace králíků čištěným PNN antigenem a proteinovými frakcemi neovlivnila zvýšení specifčnosti ani citlivosti protilátek. Nebyly zjištěny křížové reakce IgG s antigeny připravenými z dalších izolátů rajčete – *Fusarium oxysporum*, *Pythium oligandrum*, *Pythium ultimum* a *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Reakce antisér a IgG byly hodnoceny dvojitou radiální difuzí v gelu a ELISA.

polyklonální protilátky; specifčnost; *Phytophthora nicotianae* var. *nicotianae*; *P. cinnamomi*; *P. cryptogea*; *P. cactorum*; *P. fragariae*; křížové reakce

---

**Contact address:**

RNDr. Jiřina Krátká, DrSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby,  
161 06 Praha-Ruzyně, Česká republika, tel.: +42 2 36 08 51, fax: +42 2 36 52 28

INSTITUTE OF AGRICULTURAL AND FOOD INFORMATION

Slezská 7, 12056 Praha 2, Czech Republic

Fax: + 42 2 24 25 79 39

In this institute scientific journals dealing with the problems of agriculture and related sciences are published on behalf of the Czech Academy of Agricultural Sciences. The periodicals are published in the Czech or Slovak languages with summaries in English or in English with summaries in Czech or Slovak.

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

| Journal  | Number of issues per year | Yearly subscription in USD |          |
|--|---------------------------|----------------------------|----------|
|  |                           | Europe                     | overseas |
| Rostlinná výroba (Plant Production)                | 12                        | 170,-                      | 177,-    |
| Živočišná výroba (Animal Production)               | 12                        | 170,-                      | 177,-    |
| Zemědělská ekonomika (Agricultural Economics)      | 12                        | 170,-                      | 177,-    |
| Lesnictví – Forestry                               | 12                        | 170,-                      | 177,-    |
| Veterinární medicína (Veterinary Medicine – Czech) | 12                        | 132,-                      | 138,-    |
| Potravinářské vědy (Food Sciences)                 | 6                         | 76,-                       | 80,-     |
| Zemědělská technika (Agricultural Engineering)     | 4                         | 51,-                       | 53,-     |
| Ochrana rostlin (Plant Protection)                 | 4                         | 51,-                       | 53,-     |
| Genetika a šlechtění (Genetics and Plant Breeding) | 4                         | 51,-                       | 53,-     |
| Zahradnictví (Horticultural Science)               | 4                         | 51,-                       | 53,-     |

**VIRULENCE OF SLOVAK WHEAT LEAF RUST POPULATION  
OF 1995 ON TWENTY NEAR-ISOGENIC LINES  
WITH DIFFERENT *Lr* GENES**

*Pavel BARTOŠ, Josef HUSZÁR<sup>2</sup>*

*Research Institute of Crop Production – Division of Genetics and Plant Breeding,  
Prague, Czech Republic;*

*<sup>2</sup>Research Institute of Plant Production, Piešťany, Slovak Republic*

**Abstract:** The reactions to single pustule isolates of wheat leaf rust collected in 1995 at 16 localities in Slovakia were tested on near-isogenic lines of cv. Thatcher possessing *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr3*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr11*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr19*, *Lr21*, *Lr23*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr28* and *Lr30*. Resistance genes *Lr9*, *Lr19*, *Lr24* and *Lr28* were effective to all isolates. Ineffective to all isolates were genes *Lr2c*, *Lr11*, *Lr16*, *Lr21* and *Lr23*. Genes *Lr1* and *Lr2a* conferred resistance to the majority of isolates. On standard differentials 59 rust samples were tested. Out of these, 86% were identified as race 61SaBa, and 10% as race 12SaBa. Races 14 and 77 SaBa were represented each by one isolate. No novel races were found. However, novel virulence on cv. Soldur (*T. durum*) found in two samples of races 61SaBa and 14. Seven of the advanced lines tested in Slovak State Trials in 1995 are postulated to possess *Lr3*, one line *Lr26* and three lines have probably other genes for leaf rust resistance. Only one line, RA-33, displayed medium resistance to all tested races. Out of the cultivars registered in 1995, Astella, Rada and Solida seem to possess *Lr3*, while Sana has *Lr26* and another unidentified gene.

wheat leaf rust; pathotypes; *Lr* near-isogenic lines; registered cultivars; Slovakia

Application of near-isogenic lines (NILs) possessing various *Lr*-genes is becoming the most common procedure for analyses of wheat leaf rust populations. The advantage of NILs as differentials is their almost identical genetic background and that the results obtained offer the possibility to select directly genes prospective for resistance breeding.

Our paper describes reactions of wheat leaf rust isolates, collected in 1995 from various parts of Slovakia, on 20 NILs agreed upon for the differentiation of pathotypes within the framework of COST 817 project "Population

studies of airborne pathogens on cereals as a means of improving strategies for disease control“ in which Slovakia participates.

Results of 1995 race survey on standard differentials as well as reactions of the winter wheat cultivars registered in Slovakia and of advanced lines to important leaf rust races are also included. Data presented in this contribution can be useful for wheat breeding for leaf rust resistance, for recommendations of suitable cultivars for areas endangered by leaf rust, or for predicting the necessity of chemical control.

## MATERIALS AND METHODS

Twenty NILs of the cv. Thatcher possessing *Lr* genes listed in Table I were used for testing single-pustule isolates of wheat leaf rust. Seed of the NILs was obtained by courtesy of Dr. J. Kolmer, Agriculture and AgriFood Canada, Cereal Research Centre, Winnipeg. Field samples of leaf rust originated from varietal trials or from wheat fields. The susceptible cultivar Diana was inoculated with each field sample, single pustule isolates were taken and increased on the same cultivar. Some field samples, represented by one to two infected leaves, were also tested on eight standard differentials and on the cv. Salzmünder Bartweizen. Virulence on this cultivar is designated by the suffix SaBa. Temperature in the greenhouse varied between 15–25 °C. Infection types were evaluated 14 days after the inoculation according to Stakman et al. (1962). Race numbers were recorded according to Johnston and Browder (1966).

Registered cultivars and advanced lines were tested at the seedling stage under similar greenhouse conditions. Seed originated from the Central Institute for Agricultural Supervisions and Testing, Želiezovce and Praha-Sedlec.

## RESULTS AND DISCUSSION

Six pathotypes were differentiated on the 20 NILs (Table I). For all of them avirulence on *Lr9*, *Lr19*, *Lr24* and *Lr28* was characteristic. These genes are derived from *Triticum umbellulatum* (*Lr9*), *Thinopyrum ponticum* (*Lr19* and *Lr24*), and *Triticum speltoides* (*Lr28*). In previous tests (Bartoš et al., 1992) genes *Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr28* and also *Lr29* (the last one was not tested in the present tests) were effective to all leaf rust isolates. Virulences on *Lr9*,

## I. Reactions of wheat rust isolates on Lr near-isogenic lines

| NILs         | Leaf rust pathotypes |      |       |      |      |    |
|--------------|----------------------|------|-------|------|------|----|
|              | A                    | B    | C     | D    | E    | F  |
| <i>Lr1</i>   | ;                    | ;    | 0;    | ;    | ;    | 4  |
| <i>Lr2a</i>  | ;                    | ;    | ;1    | ;1   | ;    | 3  |
| <i>Lr2b</i>  | ;1-2                 | ;1-2 | 2+    | 4    | ;1   | 4  |
| <i>Lr2c</i>  | 3                    | 3    | 4     | 4    | 3    | 4  |
| <i>Lr3</i>   | 4                    | 4    | 4     | 4    | ;1   | 4  |
| <i>Lr3bg</i> | 4                    | 4    | 4     | 4    | ;1-2 | 4  |
| <i>Lr3ka</i> | 4                    | 4    | 4     | 4    | ;1   | 4  |
| <i>Lr9</i>   | ;                    | 0;   | 0;    | 0;   | 0;   | ;  |
| <i>Lr10</i>  | 3                    | ;1   | ;1-2+ | 3    | 4    | 4  |
| <i>Lr11</i>  | 4                    | 3    | 4     | 4    | 3    | 4  |
| <i>Lr15</i>  | 4                    | 4    | ;     | ;1   | ;    | 4  |
| <i>Lr16</i>  | 4                    | 4    | 4     | 4    | 4    | 4  |
| <i>Lr17</i>  | 4                    | 4    | 3     | 4    | ;1   | 4  |
| <i>Lr19</i>  | 0;                   | 0;   | ;     | ;    | ;    | ;  |
| <i>Lr21</i>  | 4                    | 4    | 4     | 4    | 4    | 4  |
| <i>Lr23</i>  | 4                    | 4    | 4     | 4    | 4    | 4  |
| <i>Lr24</i>  | 2                    | ;    | ;1    | ;1-2 | 2    | ;1 |
| <i>Lr26</i>  | 4                    | 4    | 4     | 4    | ;    | 4  |
| <i>Lr28</i>  | ;                    | 0;   | ;     | ;    | ;    | ;  |
| <i>Lr30</i>  | 4                    | 4    | 4     | 4    | 2    | 4  |

A – conformed to race 61SaBa; found at Beluša, Trebišov, Viglaš, Želiezovce, Radošina, Veľké Ripňany, Špačince, Michalovce, Veľký Meder, Piešťany, Borovce, Rimavská Sobota, Malý Šariš, Báhoň

B – conformed to race 61SaBa; found at Haniska

C – conformed to race 61SaBa; found at Sládkovičovo

D – conformed to race 12SaBa; found at Báhoň

E – conformed to race 14; found at Želiezovce

F – conformed to race 77SaBa; found at Želiezovce

*Lr19*, *Lr24* and *Lr28* seem to be rare in Europe. However, the effectiveness of *Lr9* broke down soon after introduction into commercial cultivars in the USA (McIntosh et al., 1995). The same happened recently in the Volga

region of Russia with *Lr19* (Krupnov, personal communication). As is shown on Table I, genes *Lr1* and *Lr2a* confer resistance to the large majority of isolates. Only isolates belonging to race 77SaBa overcome both these genes. On the other hand, all isolates were virulent on *Lr16*, *Lr21* and *Lr23*. *Lr30* showed a resistant reaction only to race 14. The medium resistance found of *Lr11* turned to susceptibility under a higher greenhouse temperature. Isolates belonging to the same standard race 61SaBa could be differentiated further into three groups by the reactions on *Lr10* and *Lr15*. A similar differentiation can be expected of other races if they had been found in higher numbers. In Germany, Kröcher et al. (1992) determined 212 various combinations of virulences and avirulences in 408 single pustule isolates on 22 NILs. In 1995 Park (personal communication) determined only 53 pathotypes on 20 NILs from 850 isolates collected in seven European countries.

Results of the 1995 race survey are summarized on Table II. Table III shows the reactions of the determined races on standard differentials and on the cv. Salzmünder Bartweizen. Out of 59 tested samples 51 (= 86%) were identified as race 61SaBa, 6 samples (= 10%) as race 12SaBa. Each of races 14 and 77SaBa were represented by one isolate. Out of the 51 samples determined as race 61SaBa 19 were leaf samples, out of the 6 samples determined as race 12SaBa one was a leaf sample. All other determinations were based on single pustule isolates.

## II. Leaf rust races determined in 1995

| Race   | Number of samples | %  | Number of localities | %   |
|--------|-------------------|----|----------------------|-----|
| 61SaBa | 51                | 86 | 20                   | 100 |
| 12SaBa | 6                 | 10 | 4                    | 20  |
| 14     | 1                 | 2  | 1                    | 5   |
| 77SaBa | 1                 | 2  | 1                    | 5   |

The high frequency of race 61SaBa corresponds with the high frequency of the same race in the previous year (Bartoš, Huszár, 1996). While race 12SaBa was not found in 1994, it occurred in the Czech Republic in 1995 (Bartoš et al. 1996). Race 14 has been found in former Czechoslovakia

## III. Reactions of determined races on standard differentials and cv. Salzmünder Bartweizen

| Standard differentials            | Races  |        |    |        |
|-----------------------------------|--------|--------|----|--------|
|                                   | 61SaBa | 12SaBa | 14 | 77SaBa |
| Malakof <i>Lr1</i>                | 0;     | ;      | 0; | 4      |
| Carina <i>Lr2b+B</i>              | ;1     | 3-     | ;1 | 4      |
| Brevit <i>Lr2c+B</i>              | 3-     | 3      | 3- | 3      |
| Webster <i>Lr2a</i>               | ;      | ;      | 0; | 4      |
| Loros <i>Lr2c</i>                 | 3-     | 3-     | 3- | 4      |
| Mediterranean <i>Lr3a</i>         | 4      | 3      | 0; | 4      |
| Hussar <i>Lr11</i>                | 3      | 3      | 3- | 3      |
| Democrat <i>Lr3a</i>              | 4      | 3      | 0; | 4      |
| Salzmünder Bartweizen <i>Lr26</i> | 4      | 3      | 0; | 4      |

since the sixties (Bartoš et. al., 1980). Similarities between the races found in Slovakia and some other European countries were described in our earlier paper (Bartoš, Huszár, 1996). Races found in Slovakia are comparable to some pathotypes found in 1995 by Park (personal communication). Park found that the most frequent four combinations of virulence conformed to races 14, 14SaBa, 61 and 61SaBa. An isolate conformed to race 77SaBa was found by him only in Austria.

On Table IV the geographic origin of the leaf rust samples is listed. Data marked with x were obtained from leaf samples, all other from single pustule isolates. The most common race 61SaBa was found at all 40 locations where samples were collected.

Whereas no novel combinations of virulences were detected on the standard differentials, a novel virulence to cv. Soldur (*T. durum*) was found. Such a virulence has never been revealed in the leaf rust samples we have analyzed till now. It was determined in the samples from Sládkovičovo and Želiezovce, both collected from the cv. Soldur, in the races 61SaBa and 14, respectively. The sample from Želiezovce showed a slightly higher infection type (IT3-4) than from Sládkovičovo (IT 3-). Mutation for virulence to Soldur in the race 61SaBa could have been expected as it is the most widespread race, whereas virulence in the race 14 is surprising. However, when

## IV. Geographic origin of leaf rust samples

| District          | Locality     | Cultivar          | Race                                      |
|-------------------|--------------|-------------------|---|
| Bratislava        | Báhoň        | Bruta             | 61SaBa                                    |
|                   |              | Solida            | 12SaBa                                    |
|                   |              | Barbara           | 12SaBa <sup>x</sup> , 61SaBa <sup>x</sup> |
| Trnava            | Borovce      | Hana              | 61SaBa                                    |
|                   |              | Tritikale         | 61SaBa <sup>x</sup> , 12SaBa              |
|                   |              | Ilona             | 61SaBa                                    |
| Trnava            | Piešťany     | Bruta             | 61SaBa <sup>x</sup>                       |
|                   |              | Vega              | 61SaBa, 61SaBa <sup>x</sup>               |
| Topoľčany         | Radošina     | Sparta x Fundulea | 61SaBa                                    |
| Galanta           | Sládkovičovo | Soldur            | 61SaBa, 12SaBa                            |
|                   |              | Barbara           | 61SaBa, 61SaBa <sup>x</sup>               |
|                   |              | Tritikale         | 61SaBa <sup>x</sup> , 12SaBa              |
| Považská Bystrica | Beluša       | —                 | 61SaBa                                    |
| Poprad            | Spišská Belá | Hana              | 61SaBa, 61SaBa <sup>x</sup>               |
|                   |              | Livia             | 61SaBa, 61SaBa <sup>x</sup>               |
|                   |              | Bruta             | 61SaBa <sup>x</sup>                       |
| Levice            | Želiezovce   | Hana              | 61SaBa                                    |
|                   |              | Soldur            | 14  |
|                   |              | Vlada             | 77SaBa                                    |
| Zvolen            | Vígľaš       | Bruta             | 61SaBa                                    |
|                   |              | Hana              | 61SaBa                                    |
|                   |              | Simona            | 61SaBa                                    |
|                   |              | Viginta           | 61SaBa                                    |
|                   |              | Torysa            | 61SaBa <sup>x</sup>                       |
| Košice            | Haniska      | Hana              | 61SaBa                                    |
|                   |              | Danubia           | 61SaBa <sup>x</sup>                       |
|                   |              | Samanta           | 61SaBa <sup>x</sup>                       |
|                   |              | Torysa            | 61SaBa, 61SaBa <sup>x</sup>               |
|                   |              | —                 | 61SaBa                                    |
| Košice            | Šaca         | —                 | 61SaBa <sup>x</sup>                       |

Table IV to be continued

| District         | Locality        | Cultivar | Race                                 |
|------------------|-----------------|----------|--------------------------------------|
| Prešov           | Malý Šariš      | Hana     | 61SaBa                               |
|                  |                 | Blava    | 61SaBa                               |
| Michalovce       | Michalovce      | Hana     | 61SaBa                               |
|                  |                 | Samanta  | 61SaBa                               |
| Rimavská Sobota  | Rimavská Sobota | Samanta  | 61SaBa                               |
| Spišská Nová Ves | Spišské Vlachy  | Samanta  | 61SaBa <sup>x</sup>                  |
|                  |                 | Torysa   | 61SaBa <sup>x</sup>                  |
| Trebišov         | Trebišov        | Lívia    | 61SaBa                               |
|                  |                 | Hana     | 61SaBa                               |
| Dunajská Streda  | Veľký Meder     | Viginta  | 61SaBa                               |
|                  |                 | Sana     | 61SaBa                               |
|                  |                 | Hana     | 61SaBa <sup>x</sup>                  |
| Topoľčany        | Veľké Ripňany   | Lívia    | 61SaBa                               |
|                  |                 | Samanta  | 61SaBa <sup>x</sup> , 61SaBa, 12SaBa |
| Trnava           | Špačince        | Hana     | 61SaBa                               |
| Martin           | Bodorová        | Samanta  | 61SaBa, 61SaBa <sup>x</sup>          |

<sup>x</sup>leaf sample analyzed

the virulent isolate of race 14 was increased on cv. Soldur, isolates virulent on *Lr3* and avirulent on *Lr11* were detected, but unfortunately these were lost for further studies that could have shown whether genetic instability or contamination was involved. By courtesy of Dr. Park reaction of Soldur was tested to one isolate from France specialized to attack *T. durum* but Soldur proved resistant.

Advanced wheat lines from the state trials were tested with races 61SaBa, 14, 77SaBa and 14SaBa. The results summarized on Table V, show that none of the advanced lines is resistant to the most common race 61SaBa; only line RA-33 displays medium resistance or intermediate reaction to all four used leaf rust isolates. Limited experimental data allow only preliminary conclusions on resistance genes carried by advanced lines that are resistant to race 14 (line TR-1580) or both races 14 and 14SaBa (lines SO-1441, BR-458,

## V. Reactions of advanced lines of winter wheat from the Slovak State Varietal Trials (1995)

|           | Reaction to race (isolate) |             |             |              | Postulated<br><i>Lr</i> genes |
|-----------|----------------------------|-------------|-------------|--------------|-------------------------------|
|           | 14 (333)                   | 14SaBa(600) | 61SaBa(628) | 77SaBa(1447) |                               |
| BR-456    | 0;                         | 0;          | 4           | 4            | <i>Lr3</i>                    |
| BR-442    | 0;                         | 0           | 4           | 4            | <i>Lr3</i>                    |
| SO-841    | 0;(3) 0                    | 4           | 4           | 4            | <i>Lr3</i>                    |
| SO 1441   | 0;                         | 0;(3)       | 4           | 4            | <i>Lr3</i>                    |
| TR-1583   | 0                          | ;1          | 4           | 3            | <i>Lr3</i>                    |
| BU-34-10  | 0;                         | 0           | 4           | 4            | <i>Lr3</i>                    |
| BU-50     | 0                          | 0;          | 4           | 4            | <i>Lr3</i>                    |
| RA-39     | 0                          | 1-2         | 4           | 4            | <i>Lr?</i>                    |
| RA-33     | ;1-2                       | 2-3         | 2-3         | 2-3          | <i>Lr?</i>                    |
| TR-1580   | 0                          | 4           | 4           | 4            | <i>Lr26</i>                   |
| SE-221/92 | 3(;                        | 4           | 4           | 4            | ?                             |
| SO-1269   | 4                          | 4           | 4           | 4            | –                             |
| SO-514    | 4                          | 4           | 4           | 4            | –                             |
| BU-48/A   | 4                          | 4           | 4           | 4            | –                             |
| BU-51     | 4                          | 3           | 4           | 4            | –                             |
| BR-614/9  | 4                          | 4           | 4           | 4            | –                             |
| HE-5095   | 4                          | 4           | 4           | 4            | –                             |

SO-841, BR-442, RA-39, TR-1583, BU-34-10 and BU-50). In TR-1580 the presence of *Lr26*, and in most advanced lines resistant to races 14 and 14SaBa presence of *Lr3* is probable. However the reaction of the advanced line RA-39 is higher than usual when governed by gene *Lr3*.

Results of the tests of registered cultivars (Table VI) confirm and extend data published earlier (Bartoš, Huszár, 1996). Of the cultivars registered in 1995 Rada and Solida seem to possess *Lr3*, Sana *Lr26* and an additional gene for resistance. Two undetermined genes govern the resistance of cv. Vlada (Bartoš et al., 1993), and this cultivar remains the only one resistant to the most widespread race 61SaBa. It is, however, susceptible to race 77 and 77SaBa.

## VI. Leaf rust reactions of winter wheat cultivars registered in Slovakia (1995)

| Cultivar | Registered | Reaction to race (isolate) |                 |              |                 |             |                  |                  | Postulated<br><i>Lr</i> genes |
|----------|------------|----------------------------|-----------------|--------------|-----------------|-------------|------------------|------------------|-------------------------------|
|          |            | 14<br>(333)                | 14SaBa<br>(600) | 61<br>(1887) | 61SaBa<br>(628) | 77<br>(347) | 77SaBa<br>(1447) | 57SaBa<br>(4332) |                               |
| Astella  | 1995       | 0                          | 0               | 4            | 4               | 4           | 3                | 4                | <i>Lr3</i>                    |
| Barbara  | 1993       | 0(3)                       | 0(3)            | 4            | 4               | 4           | 4                | 4                | <i>Lr3</i>                    |
| Blava    | 1992       | 0                          | 0;              | ;1           | 4               | 4           | 4                | 4                | <i>Lr?</i>                    |
| Bruta    | 1994       | 3N                         | 3               | 4            | 4               | 4           | 4                | 4                | -                             |
| Danubia  | 1984       | 0                          | 4               | 0;           | 4               | 0;          | 4                | 4                | <i>Lr26</i>                   |
| Hana     | 1985       | 0                          | 0               | 4            | 4               | 4           | 4                | 4                | <i>Lr3</i>                    |
| Ilona    | 1989       | 4                          | 4               | 3            | 4               | 4           | 4                | 4                | -                             |
| Iris     | 1983       | 0                          | 4               | 0            | 4               | 0           | 4                | 4                | <i>Lr26</i>                   |
| Košútka  | 1981       | ;1+3                       | ;1+3            | 4            | 4               | 4           | 4                | 4                | -                             |
| Lívia    | 1991       | 0                          | 3               | 0            | 4               | 0           | 3                | 4                | <i>Lr26</i>                   |
| Rada     | 1995       | 0;                         | 0;              | 4            | 4               | 4           | 4                | 4                | <i>Lr3</i>                    |
| Rexia    | 1994       | 0                          | 0;              | 4            | 4               | 4           | 4                | 4                | <i>Lr3</i>                    |
| Samanta  | 1993       | 0                          | 0               | 3            | 4               | 4           | 3                | 4                | <i>Lr3</i>                    |
| Sana     | 1995       | 0;                         | 2-3(;           | 0            | 4               | 0;          | 4                | 4                | <i>Lr26, Lr?</i>              |
| Simona   | 1991       | 4                          | 4               | 4            | 4               | 3           | 3                | 4                | -                             |
| Sofia    | 1990       | 0                          | 0;              | 0;           | 4               | 0           | 4                | 4                | <i>Lr26, Lr3</i>              |
| Solida   | 1995       | 0;                         | 0;              | 4            | 4               | 4           | 4                | 4                | <i>Lr3</i>                    |
| Torysa   | 1992       | ;N                         | ;               | 0;           | 4               | 4           | 4                | 4                | <i>Lr?</i>                    |
| Viginta  | 1984       | 0                          | 0               | 4            | 4               | 4           | 4                | 4                | <i>Lr3</i>                    |
| Vlada    | 1990       | 0                          | 0               | 0            | 0               | 3           | 4                | 0                | <i>Lr?, Lr?</i>               |
| Zdar     | 1983       | 4                          | 4               | 4            | 4               | 4           | 4                | 4                | -                             |
| Soldur   | 1989       | ;N                         | ;1              | ;1           | ;1-2            | ;           | ;1               | ;1               | <i>Lr?</i>                    |

Only the cultivar Soldur (*T. durum*) displayed resistance to all old races of our leaf rust collection. Unfortunately, breakdown of this resistance has been proved by our recent tests. This shows again the vulnerability of specific resistance, and the importance of gene combinations in breeding for resistance so as to prolong its durability. Another promising approach is breeding for partial field resistance.

### Acknowledgement

The authors thank colleagues of the Central Institute for Agricultural Supervisions and Testing for seed of registered cultivars and advanced lines and for leaf rust samples sent for determination.

### References

- BARTOŠ, P.: Physiologic specialization of stem rust and leaf rust of wheat in Czechoslovakia in the last 17 years. *Cereal Rusts Bull.*, 8, 1980: 9–11.
- BARTOŠ, P. – HUSZÁR, J.: Pathotypes of wheat leaf rust determined in Slovakia in 1994. *Polnohospodárstvo*, 42, 1996: 199–206.
- BARTOŠ, P. – HANUŠOVÁ, R. – STUHLÍKOVÁ, E.: Fyziologická specializace rzi pšeničné [*Puccinia persistens* Plow. var. *triticea* (Eriks) Urban et Marková] v České republice v letech 1994–1995. *Ochr. Rostl.*, 32, 1996: 187–200.
- BARTOŠ, P. – STUHLÍKOVÁ, E. – HANUŠOVÁ, R.: Fyziologická specializace rzi pšeničné [*Puccinia persistens* Plow. var. *triticea* (Eriks) Urban et Marková] v Československu v letech 1987–1990. *Genet. a Šlecht.*, 28, 1992: 103–119.
- BARTOŠ, P. – STUHLÍKOVÁ, E. – HANUŠOVÁ, R.: Genetika rezistence odrůd pšenice ozimé Sofia, Senta, Simona, Vlada a Vega ke rzi travní a rzi pšeničné. *Genet. a Šlecht.*, 20, 1993: 271–277.
- JOHNSTON, C. O. – BROWDER, L. E.: Seventh revisions of the international register of physiologic races of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. *Plant Dis. Repr.*, 50, 1996: 756–760.
- KRÖCHER, C., von – BARTELS, G. – FEHRMANN, H.: Untersuchungen zum Rassenspektrum bei Weizenbraunrost (*Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici* Eriks. et Henn.). *J. Plant Dis. Protect.*, 99, 1992: 137–144.
- McINTOSH, R. A. – WELLINGS, C. R. – PARK, R. F.: Wheat rust. An atlas of resistance genes. Australia, CSIRO 1995: 200 p.
- STAKMAN, E. C. – STEWART, P. M. – LOEGERING, W. Q.: Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. *Minn. Agric. Exp. Sci. J. Ser. Paper*, 4691, 1962.

Received September 18, 1996

### Virulence populace rzi pšeničné na Slovensku v roce 1995 na dvaceti téměř izogenních liniích s různými *Lr* geny

Reakce jednodupkových izolátů rzi pšeničné ze 16 lokalit Slovenska z roku 1995 se zjišťovala na téměř izogenních liniích odrůdy Thatcher s geny *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr3*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr11*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr19*, *Lr21*, *Lr23*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr28* a *Lr30*. Tento soubor linií byl doporučen v rámci mezinárodního projektu COST 817 „Populační studie vzduchem přenášených patogenů obilnin jako prostředek pro zlepšení strategie ochrany proti nim“. Geny rezistence *Lr9*, *Lr24* a *Lr28* byly účinné ke všem zkoušeným izolátům rzi pšeničné. Ke všem zkoušeným izolátům neúčinné byly geny *Lr2c*, *Lr11*, *Lr16*, *Lr21* a *Lr23*. Geny *Lr1* a *Lr2a* poskytovaly ochranu k většině izolátů.

Na standardních diferenciačních odrůdách jsme testovali 59 vzorků rzi pšeničné. Z bylo určeno 86 % jako rasa 61SaBa, 10 % jako rasa 12SaBa. Rasy 14 a 77SaBa byly zastoupeny jen jedním izolátem. Nebyla zjištěna žádná nová rasa, ale prvně byla zjištěna virulence na odrůdě Soldur (*Triticum durum*) v jednom izolátu rasy 61SaBa a jednom izolátu rasy 14.

Z linií zkoušených v roce 1995 v mezistaničních zkouškách je možné na základě reakcí k souboru ras rzi pšeničné předpokládat u sedmi linií *Lr3*, u jedné linie *Lr26* a tři linie mají pravděpodobně jiné geny rezistence ke rzi pšeničné. Jen jedna linie (RA-33) měla střední rezistenci ke všem zkoušeným rasám, kdežto v šesti liniích nebyl žádný gen rezistence. Z odrůd povolených v roce 1995 mají odrůdy Astella, Rada a Solida pravděpodobně gen rezistence *Lr3*, Sana gen *Lr26* a pravděpodobně další neurčený gen.

rez pšeničná; pathotypy; *Lr* geny; novošlechtění; povolené odrůdy; Slovensko

---

#### Contact address:

Ing. Pavel Bartoš, DrSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby,  
161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika,  
tel.: + 42 2 36 08 51, fax: + 42 2 36 52 28

# **MOLECULAR BIOLOGY FOR AGRICULTURE**

Second Symposium in the Series

## **RECENT ADVANCES IN PLANT BIOTECHNOLOGIES**

organized by

**INSTITUTE OF PLANT MOLECULAR BIOLOGY**

Academy of Sciences of the Czech Republic

České Budějovice

and

**INSTITUTE OF PLANT GENETICS**

Slovak Academy of Sciences

Nitra

**August 25–29, 1997**

**České Budějovice, Czech Republic**

Topics: 1. Plant Tissue Cultures and Genetic Transformation

2. Structure and Function of Plant Genome

3. Regulation of Plant Growth and Differentiation

4. Molecular Phytopathology and Plant Resistance

The Symposium will consist of invited lectures and poster/oral communications (the presenters of oral communications will be selected by the organizing committee from submitted abstracts).

Language: English

Registration fee: 2 250 Kč (Sk) regular

1 500.Kč (Sk) students

Accommodation: Hotels (single room about 1 000 Kč/day) or

University Dormitory (double room about 250 Kč/day)

near the Conference Center where the Symposium

will be held

For further details / second circular please contact

the Symposium Secretariat:

Marcela Nouzová

ÚMBR AV ČV

Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

Phone: + 42 38 817, ext. 307; Fax: + 42 38 41 475;

E-mail: [meeting@umbr.cas.cz](mailto:meeting@umbr.cas.cz)

NEW RECORD OF PLANT PARASITIC NEMATODE ASSOCIATED  
WITH ACTINORRHIZAL *Hippophae rhamnoides*

Mohammad ATHAR

Land Resources Research Institute, Pakistan Agricultural Research Council,  
Institute Islamabad, Pakistan

**Abstract:** During a collection of nodulated plants from the northern areas of Pakistan, *Hippophae rhamnoides* (Elaeagnaceae) growing in forest plantations in Punyal Valley near Gilgit (Pakistan) was found infested with root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *H. rhamnoides* appears to be a new host record for *M. javanica*.

*Hippophae rhamnoides* Linn.; root-knot nematodes; Pakistan

Nitrogen-fixing actinomycete, *Frankia*, forms symbiotic association with a wide range of perennial non-legumes designated as actinorrhizal plants. Over 200 plant species belonging to eight angiosperm families are capable of forming actinorrhizal nodules (Berry, 1994). All actinorrhizal plants except *Datisca* are woody shrubs or trees and provide good quality timber and fuel wood. Actinorrhizal plants contribute substantially to nitrogen economy of the soil with potential applications in agro-forestry, land reclamation and management of sustainable ecosystems throughout the world (Schwintzer, Tjepkema, 1990; Reddell et al., 1991). Other uses of actinorrhizal plants as sources of pulp, fodder, medicines, oils, fruits, tannins, and chemicals have also been described (Dawson, 1986; Reddell et al. 1991).

During a collection of nodulated plants from the northern areas of Pakistan, *Datisca cannabina* (Datisceae) growing in forest plantation of Swat was found infested with root-knot nematode *Meloidogyne javanica* (Athar, 1996). Root-knot nematodes are considered to be one of the most important pests limiting the agricultural and forest productivity throughout the world. An extensive survey carried out in northern Pakistan revealed soil and plants infested with many new and known plant parasitic nematodes (Maqbool, 1992; Maqbool, Shahina, 1995). These nematodes undoubtedly re-

duce the growth and yield of fruits, vegetables and forest trees, affecting the economy of the agro-forestry based rural population of the country.

*Hippophae rhamnoides* Linn. is an actinorhizal plant distributed in Europe and Asia (Schwintzer, Tjepkema, 1990). It is an important forest tree which produces edible and marketable berries and can be found growing even in poor soils and ecologically disturbed sites. Chaudhary et al. (1981) described actinorhizal nodules in *H. rhamnoides* from northern areas of Pakistan. This paper reports the nematode infestation in actinorhizal *H. rhamnoides* from natural plantations of northern Pakistan.

### MATERIALS AND METHODS

The study was made on plants growing in Naltar Valley near Gilgit (36 °N, 74 °E; elevation 1920 m). The study area falls under temperate desert bush type of bio-climate (Ahmed, 1986). The meteorological data of Gilgit shows that September is the hottest month (36.4 °C mean maximum), while January is the coldest month (–2.8 °C mean minimum). Rainfall ranges from 100 to 250 mm with most of the precipitation received during summer. The area is generally arid and the only available moisture for plants or agriculture comes from the springs and streams. The rugged mountain topography has existed since the Tertiary period when the region was subjected to prolonged orogeny (Shah, 1977). The soil in the study area is fine-textured, basic in nature and in most cases not differentiated into horizons (Ahmed, 1986).

Twenty *H. rhamnoides* plants growing under natural habitat conditions were examined for the presence of nodules and suspicion of nematodes. Roots were excavated and traced from the stem basis of the mature trees to possible extremity. Both nodules and root-knots were collected and cleared of dirt by repeated washing under running tap water. Root-knots were distinguished from nodules as described by Truchet et al. (1989). Nematode extraction and identification were done by the method described by Maqbool (1992). Specimens were killed by gentle heat, were fixed in TAF, then transferred in glycerine solution containing traces of picric acid and allowed to dehydrate and then mounted in glycerine on glass slides for observation.

## RESULTS AND DISCUSSION

Out of 20 *H. rhamnoides* plants examined, roots of nine plants had actinorhizal nodules, seven had root-knots and four had nodules distributed among root-knots formed by nematodes. The nematodes from these root-knots were identified as *Meloidogyne javanica* (Treub, 1888) based on perineal pattern of mature females in having low dorsal arch and distinct lateral line. The actinorhizal *H. rhamnoides* plants form a new host record for *M. javanica* as determined by comparing with available check lists. (Munir et al., 1986; Maqbool, 1992; Maqbool, Nasira, 1995; Maqbool, Shahina, 1995; Athar, 1996).

Many of the actinorhizal plants are of great ecological significance due to their contribution in reforesting endangered sites, protecting crops, rehabilitating marginal or wastelands (Reddell et al., 1991; Brown, Lugo, 1994). The rates of nitrogen fixation measured in nodules of actinorhizal genera are higher than or comparable to rates attained in legumes using similar assays (Schwintzer, Tjepkema, 1990). The isolation of nitrogen-fixing micro-symbiont is difficult to obtain from the actinorhizal plants, and unlike rhizobia pure *Frankia* strains, are not always available as inoculum for these plants. Moreover, foresters do not have the facilities to grow *Frankia* or to buy inoculum. Under these circumstances plants can better be inoculated with nodule homogenates or with soil from the vicinity of actinorhizal plants. This technique has been successfully used in Egypt during large-scale plantation of desert soil with *Casuarina* spp. (El-Lakany et al., 1990). This low cost, traditional practice has the advantage of being used without advanced microbiological expertise. However, this technique should be used with caution because of the risk of the spread of soil-borne pathogens like fungi, insects and / or nematodes along with nodules or soil inoculum.

## Acknowledgements

Sincere gratitude is expressed to Dr. M. A. Maqbool for checking actinorhizal plants with his records of parasitic nematodes. Thanks are due to Shahbaz Ahmed for facilitating the sample collection from northern Pakistan and Anjum Munir for the identification of the nematodes.

## References

- AHMED, M.: Vegetation of foothills of Himalayan range in Pakistan. Pak. J. Bot., 18, 1986: 261–269.
- ATHAR, M.: Actinorhizal *Datisca cannabina* as new host of *Meloidogyne javanica*. Pak. J. Nematol., 14, 1996:133–134.
- BERRY, A. M.: Recent developments in actinorhizal symbioses. Plant Soil, 161, 1994:135-145.
- BROWN, S. – LUGO, A. E.: Rehabilitation of tropical forest lands: a key to sustaining development. Res. Ecol., 2, 1994: 97–111.
- CHAUDHARY, A. H. – KHOKHAR, S. N. – ZAFAR, Y. – HAFEEZ, F.: Actinomycetous root nodules in angiosperms of Pakistan. Plant Soil, 60, 1981: 341–348.
- DAWSON, J. D.: Actinorhizal plants: Their use in agriculture and forestry. Outl. Agric., 15, 1986: 202–208.
- EL-LAKANY, M. H. – TURNBULL, J. W. – BREWBAKER, J. L.: Advances in Casuarina Research and Utilization. Cairo, Amer. Univ. Cairo Press 1990.
- MAQBOOL, M. A.: Distribution and host association of plant parasitic nematodes in Pakistan. Karachi, Nation. Nematol. Res. Center, Univ. Karachi, 1992.
- MAQBOOL, M. A. – NASIRA, K.: Occurrence and host association of longidorid and trichodorid nematodes in Pakistan. Pak. J. Nematol., 13, 1995: 9–18.
- MAQBOOL, M. A. – SHAHINA, F.: Plant parasitic nematodes associated with fruits and vegetables in Malakand Agency, Pakistan. Pak. J. Nematol., 13, 1995: 83–92.
- MUNIR, A. – ATHAR, M. – KHAN, B. A. – ASLAM, M.: Some leguminous plants as new hosts of *Meloidogyne javanica*. Pak. J. Nematol., 4, 1986: 91–92.
- REDDELL, P. – DIEM, H. G. – DOMMERGUES, Y. R.: Use of actinorhizal plants in arid and semiarid environments. In: SKUJINS, J. (Ed.): Semiarid Lands and Deserts: Soil Resource and Reclamation. New York, Marcel Dekker 1991: 469–485.
- SCHWINTZER, C. R. – TJEPKEMA, J. D.: The Biology of *Frankia* and Actinorhizal Plants. San Diego CA., Acad. Press 1990
- SHAH, S. M. I.: Stratigraphy of Pakistan. Vol. 12. Islamabad, Printing Corporation of Pakistan 1977
- TRUCHET, G. – CAMUT, S. – BILLY, F., de – ODORICO, R. – VASE, J.: The *Rhizobium*-legume symbiosis: Two methods of discriminating between nodules and other root-derived structures. Protoplasma, 149, 1989: 82–88.

Received October 17, 1996

Nový nález háďátka parazitujícího na rostlinách *Hippophae rhamnoides*

Během sběru hlízkovitých rostlin ze severních oblastí Pákistánu jsme zjistili, že *Hippophae rhamnoides* (Elaeagnaceae) rostoucí v lesních výsadbách v údolí řeky Punyal u Gilgitu (Pákistán) je napadena kořenovým háďátkem *Meloidogyne javanica*. Zdá se, že se jedná o nový nález výskytu *M. javanica* na *H. rhamnoides*.

*Hippophae rhamnoides*, kořenové háďátko, Pákistán

---

Contact address:

Mohammad A thar, Ph.D., Department of Environmental Horticulture,  
University of California-Davis, Davis, CA 95616-8587, USA,  
tel: (916) 752-0130, fax: (916) 752-1819, e-mail: matariq@ucdavis.edu

**Nejčerstvější informace o časopiseckých člancích  
poskytuje automatizovaný systém**

***CURRENT CONTENTS*  
na disketách**

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna odebírá časopis **Current Contents** řadu Agriculture, Biology and Environmental Sciences a řadu Life Sciences na disketách. Řada Agriculture, biology and Environmental Sciences je od roku 1994 k dispozici i s abstrakty. Obě tyto řady vycházejí 52krát ročně a zahrnují všechny významné časopisy a pokračovací sborníky z uvedených oborů.

Uložení informací z Current Contents na disketách umožňuje nejrozmanitější referenční služby z prakticky nejčerstvějších literárních pramenů, neboť báze dat je **doplňována každý týden** a neprodleně expedována odběratelům. V systému si lze nejen prohlížet jednotlivá čísla Current Contents, ale po přesném nadefinování sledovaného profilu je možné adresně vyhledávat informace, tisknout je nebo kopírovat na disketu s možností dalšího zpracování na vlastním počítači. Systém umožňuje i tisk žádanek o separát apod. Kumulované vyhledávání v šesti číslech Current Contents najednou velice urychluje rešeršní práci.

**Přístup k informacím Current Contents je umožněn dvojím způsobem:**

1. **Zakázkový přístup** – po vyplnění příslušného zakázkového listu (objednávky) je vhodný především pro mimopražské zájemce.

Finanční podmínky: – použití PC – 15 Kč za každou započatou půlhodinu  
– odborná obsluha – 10 Kč za 10 minut práce  
– vytištění rešerše – 1 Kč za 1 stranu A4  
– žádanky o separát – 1 Kč za 1 kus  
– poštovné + režijní poplatek 15 %

2. **Self-service** – samoobslužná práce na osobním počítači v ÚZLK.

Finanční podmínky jsou obdobné. Vzhledem k tomu, že si uživatel zpracovává rešerši sám, je to maximálně úsporné. (Do kalkulace cen nezapočítáváme cenu programu a databáze Current Contents.)

V případě zájmu o tyto služby se obraťte na adresu:

**Ústřední zemědělská a lesnická knihovna**

Dr. Bartošová

Slezská 7

120 56 Praha 2

Tel.: 02/24 25 79 39, l. 520, fax: 02/24 25 39 38

Na této adrese obdržíte bližší informace a získáte formuláře pro objednávku zakázkové služby. V případě „self-servisu“ je vhodné se předem telefonicky objednat. V případě zájmu je možné si objednat i průběžné sledování profilu (cena se podle složitosti zadání pohybuje čtvrtletně kolem 100 až 150 Kč).

**AN ASSESSMENT OF TIME VARYING RATE OF INCREASE  
OF THE GREEN PEACH APHID, *Myzus persicae*:  
ITS IMPORTANCE IN IPM OF COMMERCIAL  
GREENHOUSE PEPPERS**

Vojtěch JAROŠÍK, Alois HONĚK<sup>1</sup>, Laurent LAPCHIN<sup>2</sup>, Jean-Michel RABASSE<sup>2</sup>

Charles University, Faculty of Sciences, Prague;

<sup>1</sup>Research Institute of Crop Production, Prague, Czech Republic;

<sup>2</sup>INRA, Station de Zoologie des Invertébrés, Antibes, France

**Abstract:** The population growth rate of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer), was studied on potted pepper plants, *Capsicum annuum* L., in a greenhouse at  $26 \pm 4$  °C, RH  $65 \pm 25\%$  and natural light conditions. Aphids were introduced (240–320 per cage) into eight cages containing eight plants each. The rate of population increase ( $r$ ) was estimated for each cage from successive census of aphid populations. During the initial 18 days of population growth, the rates of increase in different cages varied widely. From day 19 on, the growth rates became exponential in all cages as indicated by analysis of covariance, and was approximately  $r = 0.226$  (SE = 0.012,  $r^2 = 0.9$ ) for all populations. The latter period of uniform population development may provide a realistic assessment of average  $r$  for *M. persicae*.

growth rate; intrinsic rate of increase; greenhouse peppers; *Myzus persicae*; IPM

The green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera, Aphididae) is of high economic importance with a wide geographic distribution and a wide host range (Emden et al., 1969). World-wide there is reason for concern because of high levels of resistance to organophosphorous (Anthon, 1955), carbamate (McClanahan, Founk, 1983) and pyrethroid (French-Constant et al., 1987) insecticides. Among plant species seriously attacked is pepper (*Capsicum annuum* L.) in commercial greenhouses where *M. persicae* causes not only direct feeding damage but is also a prominent vector of cucumber mosaic virus, potato virus Y and alfalfa mosaic virus (Somos, 1984).

Studies of its population growth and development have been reviewed by Culliney, Pimentel (1985) and Kocourek, Beránková (1989). Traditionally, the intrinsic rate of increase,  $r_m$ , is estimated from developmental rates, age-specific fecundity, and age-specific mortality under constant conditions. The results are sensitive to variation in microclimatic (Wyatt, Brown, 1977) and trophic conditions (Emden, Bashford, 1969; Wearing, 1972; Jansson, Smilowitz, 1985, 1986; Petitt et al., 1994), but may also be affected by the mode of reproduction (e.g. parthenogenetic), clonal polymorphism and telescoping of generations, which change reproductive rate and age-specific mortality. As a result,  $r_m$  estimates based on life-table data may be of limited value for determining the rate of population increase in the field (Dixon, 1987).

This paper presents an alternative direct method to calculate the population rate of growth ( $r$ ) using total aphid numbers present per plant over the season. The method enables the assessment of the “average” development parameter for each plant throughout the greenhouse.

## MATERIAL AND METHODS

The experiment was carried out in a 8 x 3 x 2 m greenhouse at I.N.R.A., Antibes, France, under controlled temperature  $26 \pm 4$  °C, RH  $65 \pm 25\%$ , and natural light. Eight 1.6 x 0.95 x 1.15 m cages covered by nylon gauze were used, and each contained eight pepper plants ( $54.2 = 0.5$  cm tall) (*Capsicum annuum* L. cv. Sonar). Each plant was potted in standard peat substrate, watered daily and fertilized weekly with 150 ml of 18N-6P-26K. At the beginning of the experiment, the plants were 84 days old, and fruit maturation was beginning.

On May 3, the peppers were infested by clonal populations of *Myzus persicae*, derived from a viviparous female originating from eggplants (*Solanum melongena* L. cv. Bonica) reared at  $22 \pm 2$  °C and 16L : 8D photoperiod. Each pepper was infested by placing on its top leaves two pieces of eggplant leaves infested with 30–40 aphids. Counting of aphid numbers on individual plants started May 13 and, with few exceptions, continued daily for 13 days.

The rate of population increase ( $r$ ) was calculated using equation

$$N_t = N_0 e^{rt}$$

where:  $N_t$  – population size at time  $t$

$N_0$  – the population size at time zero

Aphid numbers on individual plants were transformed to natural logarithms and the mean value  $\ln(\bar{x})$  for each cage plotted against time. The rates of aphid population increase for each cage were estimated by analysis of covariance (ANCOVA) with  $\ln(\bar{x})$  as the response variable, sampling days ( $t$ ) as the covariate, and cages as a factor. The data were fit to the linear regression model

$$\ln N_t(i) = \ln N_0(i) + r(i) * t$$

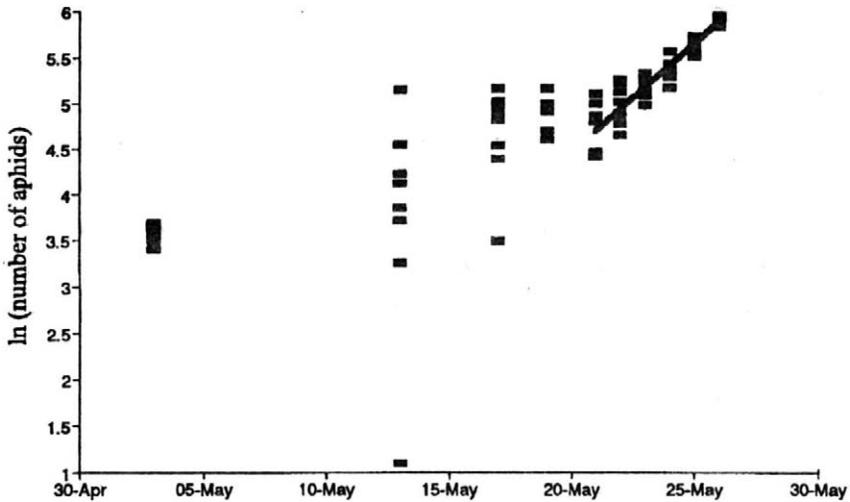
where the cage is indicated by  $i$  ( $i = 1, \dots, 8$ ). The slope of the regression line ( $r$ ) estimates the population growth rate.

Differences in rates of increase in individual cages were examined using Cook's distances in the ANCOVA (Cook, Weisberg, 1982). The data points with large values of Cook's distance were sorted in descending order, weighted out of the analysis one after another, and the ANCOVA repeated until the regression slope (i.e. the rate of increase) was both linear and consistent among cages. This was done to examine the rates of population growth once the exponential phase had begun. Calculations were made using general linear modelling in GLIM 4(TM) (Francis et al., 1994).

## RESULTS

Aphid numbers per cage varied more in the early period (May 13, 17 and 19) than late (May 21–26). Plots of the data ( $\ln N_t$  on  $t$ ) indicate that the initial rates of increase varied widely, but that the final rates were similar (Fig. 1). The effects of early non-linear log population growth can be estimated as Cook's distances. This early variation contributed to non-linearity and to statistically different rates of population increase among cages.

However, analyses of the data after May 21 indicate that the rates of population increase did not differ among the cages. This period coincides with the time of exponential population growth. The regressions of  $\ln$  aphid numbers from all cages on time after May 21 were highly significant ( $p < 0.01$ ), and the common rate of increase was  $r = 0.226$  ( $SE = 0.012$ ,  $r^2 = 0.9$ ).



1. Log population growth of *Myzus persicae* on pepper plants over time expressed in natural logarithms of average aphid numbers per plant per cage. Linear regression line indicated for the period of exponential population growth

## DISCUSSION

Our experiment provides a realistic estimate of the potential rate of population growth of *M. persicae* in commercial glasshouse stands of pepper. The value of  $r$  estimated in our study is within the range of  $r_m$  found by different authors using similar life table conditions (Table I). As expected, the  $r_m$ 's were generally larger than our estimate  $r = 0.226$ . Ve hrs et al. (1992) used similar regression methods for *M. persicae* on chrysanthemum plants and found  $r = 0.16$ .

Populations are known to achieve a constant intrinsic rate of increase  $r_m$  under conditions of an unlimited environment and a stable age distribution (e.g. Mertz, 1970). The early stochasticity of population development in our study was not due to space or resource limitations. Rather, it was likely caused by differences in the age structure of small initial populations transferred to each plant, by early stochastic mortality due to transfer from eggplant to peppers, and possibly by changes in rearing temperature. Such variable population growth rates are typical during the initial phase of development of aphid and other populations (Carter, Dixon, 1981).

I. Previously reported estimates of intrinsic rate of increase ( $r_m$ ) for *Myzus persicae* at 20–25 °C and at L16–18 : D6–8 photoperiod, compared with the assessment of rate of increase ( $r$ ) in our study (bold)

| $r_m$ (day <sup>-1</sup> )    | Plant   | Reference                  |
|-------------------------------|---|----------------------------|
| $r = 0.16$                    | chrysanthemum plants  | Vehrs et al. (1992)        |
| 0.186–0.204                   | upper potato leaves   | Jansson, Smilowitz (1985)  |
| <b><math>r = 0.226</math></b> | <b>pepper plants</b>  | <b>this study</b>          |
| 0.239–0.256                   | lower potato leaves   | Jansson Smilowitz (1985)   |
| 0.267                         | eggplant leaf discs   | Rabasse, Shalaby (1979)    |
| 0.277                         | cabbage   | DeLoach (1974)             |
| 0.313–0.356                   | peppers   | Petitt et al. (1994)       |
| 0.339                         | sugar beet  | Kocourek, Beránková (1989) |
| 0.348                         | collard   | Culliney, Pimentel (1985)  |
| 0.408                         | chrysanthemum leaf discs  | Wyatt, Brown (1977)        |
| 1.8                           | brussels sprout leaf discs floated in a nutrient culture solution | El Din (1976)              |

<sup>1</sup>natural light conditions in spring and in autumn

The growth of aphid populations in our experiment was characterized by an early phase which differed greatly among cages, and an exponential phase which had the same rate in all cages. A knowledge of the early phase may be useful for determining when the exponential phase is likely to begin, thus estimating the need and timing for pest control. *Myzus persicae* is a highly mobile species (Kennedy et al., 1950; Rabasse, Wyatt, 1985) and may spread rapidly throughout the greenhouse in the early phase without being noticed. By the time the population reaches the exponential phase it may be difficult to control and significant damage may have occurred. Hence, knowledge of the pattern of initial population growth rate appears to be very important in estimating the potential for an aphid outbreak.

#### Acknowledgements

We thank A. M. Geria and E. Franco for technical assistance, and A. P. Gu-tierrez for critical reading of the manuscript and improving our English.

## References

- ANTHON, E. W.: Evidence for green peach aphid resistance to organophosphorous insecticides. *J. Econ. Entomol.*, 48, 1955: 56–57.
- CARTER, N. – DIXON, A. F. G.: The “natural enemy ravine” in cereal aphid population dynamics: a consequence of predator activity or aphid biology. *J. Anim. Ecol.*, 50, 1981: 605–611.
- COOK, R. D. – WEISBERG, S.: *Residuals and Influence in Regression*. London, Chapman and Hall 1982.
- CULLINEY, T. W. – PIMENTEL, D.: The intrinsic rate of natural increase of the green peach aphid *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphidinae) on collards (*Brassica oleracea* L.). *Can. Entomol.*, 117, 1985: 1147–1149.
- DeLOACH, C. J.: Rate of increase of populations of cabbage, green peach, and turnip aphids at constant temperatures. *Ann. Ent. Soc. Am.*, 67, 1974: 332–340.
- DIXON, A. F. G.: Parthenogenetic reproduction and the rate of increase in aphids. In: MINKS, A. K. – HARREWIJN, P. (Eds): *Aphids. Their Biology, Natural Enemies and Control*. Vol. 2A. Amsterdam, Elsevier 1987: 269–287.
- EMDEN, H. F., van – BASHFORD, M. A.: A comparison of the reproduction of *Brevicorine brassicae* and *Myzus persicae* in relation to soluble nitrogen concentration and leaf age (leaf position) in the brussels sprout plant. *Entomol. Exp. Appl.*, 12, 1969a: 351–364.
- EMDEN, H. F., van – EASTOP, V. F. – HUGHES, R. D. – WAY, M. J.: The ecology of *Myzus persicae*. *Ann. Rev. Ent.*, 14, 1969b: 197–270.
- EL DIN, N. S.: Effect of temperature on the aphid, *Myzus persicae* (Sulzer), with special reference to critically low and high temperature. *Z. angew. Entomol.*, 80, 1976: 7–14.
- FFRENCH-CONSTANT, R. H. – DEVONSHIRE, A. L. – CLARK, S. J.: Differential rate of selection for resistance by carbamate, organophosphorous and combined pyrethroid and organophosphorous insecticides in *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). *Bull. ent. Res.*, 77, 1987: 227–238.
- FRANCIS, B. – GREEN, M. – PAYNE, C. (Eds): *The GLIM System. Release 4 Manual*. Oxford, Clarendon Press 1994.
- JANSSON, R. K. – SMILOWITZ, Z.: Development and reproduction of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae), on upper and lower leaves of three potato cultivars. *Can. Entomol.*, 117, 1985: 247–252.
- JANSSON, R. K. – SMILOWITZ, Z.: Influence of nitrogen on population parameters of potato insects: abundance, population growth, and within plant distribution of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Environ. Entomol.*, 15, 1986: 49–55.

- KOCOUREK, F. – BERÁNKOVÁ, J.: Temperature requirements for development and population growth of the green peach aphid *Myzus persicae* on sugar beet. Acta Entomol. Bohemoslov., 86, 1989: 349–355.
- McCLANAHAN, R. J. – FOUNK, J.: Toxicity of insecticides to the green peach aphid (Homoptera: Aphididae) in laboratory and field tests, 1971–1982. J. Econ. Entomol., 76, 1983: 899–905.
- MERTZ, D. B.: Notes on methods used in life-history studies. In: CONNELL, J. H. – CONNELL, D. B. – MURDOCH, W. W. (Eds): Readings in Ecology and Ecological Genetics. New York, Harper and Row 1970: 4–17.
- PETTTT, F. L. – LOADER, C. A. – SCHON, M. K.: Reduction of nitrogen concentration in the hydroponic solution on population growth rate of the aphids (Homoptera: Aphididae) *Aphis gossypii* on cucumber and *Myzus persicae* on pepper. Environ. Entomol., 23, 1994: 930–936.
- RABASSE, J.-M. – SHALABY, F. F.: Incidence du parasite *Aphidius matricariae* Hal. (Hym., Aphidiidae) sur la fécondité de son hôte *Myzus persicae* Sulz. (Hom., Aphididae) à différentes températures. Ann. Zool. Ecol. anim., 11, 1979: 359–369.
- RABASSE, J.-M. – WYATT, I. J.: Biology of aphids and their parasites in glasshouses. In: HUSSEY, N. – SCOPES, N. W. (Eds): Biological Pest Control: the Glasshouse Experience. New York, Cornell Univ. Press 1985: 66–73.
- SOMOS, A.: The Paprika. Budapest, Akadémiai Kiadó 1984.
- VEHRS, S. L. C. – WALKER, G. P. – PARRELLA, M. P.: Comparison of population growth rate and within-plant distribution between *Aphis gossypii* and *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) reared on potted chrysanthemums. J. Econ. Entomol., 85, 1992: 799–807.
- WEARING, C. H.: Selection of Brussels sprouts of different water status by apterous and alatae *Myzus persicae* and *Brevicorine brassicae* in relation to the age of leaves. Entomol. Exp. Appl., 15, 1972: 139–154.
- WYATT, I. J. – BROWN, S. J.: The influence of light intensity, daylength and temperature on increase rates of four glasshouse aphids. J. Appl. Ecol., 14, 1977: 391–399.

Received July 10, 1996

### Odhad kolisající rychlosti růstu mšice broskvoňové (*Myzus persicae*): význam pro integrovanou ochranu skleníkových paprik

Rychlost populačního růstu mšice broskvoňové, *Myzus persicae* (Sulzer), byla studována ve skleníku na hrnkovaných rostlinách paprik (*Capsicum annuum* L.) při  $26 \pm 4$  °C, relativní vzdušné vlhkosti  $65 \pm 25$  % a za přirozených světelných podmínek. Mšice byly introdukovány (240–320 na jeden izolátor) do osmi izolátorů, každý s osmi rostlinami. Sčítáním populací mšic byla odha-

dována rychlost populačního růstu ( $r$ ) pro každý izolátor. V průběhu prvních osmnácti dní populační růst v jednotlivých izolátorech silně kolísal. Analýzou kovariance bylo prokázáno, že od devatenáctého dne byl ve všech izolátorech populační růst exponenciální a pro všechny populace přibližně rovný  $r = 0,226$  ( $SE = 0,012$ ,  $r^2 = 0,9$ ). Toto druhé období populačního vývoje dovoluje realistický odhad průměrné rychlosti *M. persicae*.

rychlost růstu; skleníkové papriky; mšice broskvoňová; integrovaná ochrana

---

*Contact address:*

Doc. RNDr. Vojtěch Jarošík, CSc., Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy,  
katedra zoologie, Viničná 7, 128 44 Praha 2, Česká republika,  
tel.: + 42 2 21953417, fax: + 42 2 299713, e-mail: jarosik@mbox.cesnet.cz

**EGG-LAYING OF THE EUROPEAN CORN BORER,***Ostrinia nubilalis* Hbn.

Ludovít CAGÁŇ, Jano TANCIK

*University of Agriculture – Department of Plant Protection,  
Nitra, Slovak Republic*

**Abstract:** From 1989–1995 the incidence of European corn borer (ECB) eggs was observed on maize plants near Nitra in southwestern Slovakia. At the beginning of the egg-laying, the clusters were usually found on the 4th and 5th lower leaves. During egg-laying maximum the clusters were mostly observed on the 5th, 6th and 7th leaves. The eggs were found on the lower maize leaves in 1992, 1993 and 1994 when the first eggs were observed earlier in the season. Height above soil level of the egg clusters was not influenced by average daily temperatures. The correlation coefficient between the height of egg clusters and amount of rainfall, which was moderately strong ( $r = 0.535$ ,  $p = 0.21587$ ), indicates that in wet weather the ECB females lay their eggs higher on the plant. Over seven years, the mean number of eggs in one cluster ranged from 15.03 to 18.24. The average number of eggs in one cluster during all years of observation was 16.66. Analysis of variance did not show significant differences due to year. The correlation coefficient between mean number of eggs in one cluster and average daily temperature was  $r = -0.686$  ( $p = 0.08894$ ). A very strong correlation was obtained between the amount of eggs observed on the maize plants and the percentage of damaged plants in autumn ( $r = 0.894$ ,  $p = 0.00662$ ).

European corn borer; *Ostrinia nubilalis*; maize; egg-laying

Females of the European corn borer (ECB) deposit their eggs in clusters. Poos (1927) found that the average number of eggs in one cluster was 15.5 and 14.2 in two different years. Other authors observed this average to be 16.9 (Zwölfer, 1929), 15.8 (Stirret, 1938), 16.56 (Bírová, 1962), 18 (Hudon, Leroux, 1986) and 19.3 (Lee, 1988).

Most of the egg masses are laid on the lower side of leaves (Windels, Chiang, 1975; Hudon, Leroux, 1986; Lee, 1988). Eggs may be deposited on all leaves, but the insects usually prefer the middle zone of the plant (Reh, 1985). Nearly 95% of egg masses were found on the lower 5th,

6th and 7th leaves (Lee, 1988). Sorenson et al. (1993) reported that approximately 85% of 2nd-generation egg masses were deposited in a five leaf zone surrounding the primary ear; of these, 89% were found on the lower four leaves in this zone.

At the beginning of the egg-laying period the average number of eggs per cluster was higher than later. Night temperatures between 18.5–20.5 °C were optimal for egg laying (Zwölfer, 1929). At high temperatures and low air humidity the eggs were deposited more in the lower plant zone (Chiang, Hodson, 1953; Ohnesorge, Reh, 1987). The more egg clusters were found on maize plants, the more ECB larvae were usually found in the plants in autumn (Langenbruch, 1987).

The aim of this work was to determine how the year and date of observation can influence the number of eggs in one egg cluster or their distribution on the maize plant in southwestern Slovakia. This study also attempted to find a relationship between the number of eggs deposited on maize plants and the number of plants damaged in autumn.

## MATERIAL AND METHODS

In 1989–1995 the occurrence of ECB eggs on maize plants was observed at Nitra-Janíkovce, situated 5 km south of Nitra. The location was at an altitude of 135 m.

Ten plants at each of ten randomly chosen places in the maize field (100 plants altogether) were selected and the ECB egg clusters were examined; for each cluster the number of eggs was counted and its position on the plant noted. Leaf rank was counted from the first normally developed leaf on the lower part of the plant (from the first leaf which is also green during flowering).

Up to the date when the first egg clusters were found, the plants were investigated at 5 day intervals, and later even more often. The observation continued until 10 days after the last egg cluster was found.

Data obtained in experiments were subjected to an analysis of variance to determine the differences among number of eggs in one egg cluster and height of egg cluster in each year and date of observation. Correlation coeffi-

cients between the average size of the egg cluster or height of the egg cluster and average daily temperatures or rainfall were calculated. The correlation coefficient between the number of eggs during the season and the final damage of the plants in autumn was also calculated.

## RESULTS

Table I shows that at the beginning of egg-laying the clusters were usually found on the 4th and 5th lower leaves. During the egg-laying maximum the clusters were mostly observed on the 5th, 6th and 7th leaves. Thus, in the beginning of the egg-laying period the eggs were laid on lower leaves than later.

Analysis of variance for height of the eggs on the plants revealed significant differences between the years (Table II). In 1994 the eggs were lower than in the other years. Average height of the eggs was not correlated with the average daily temperature ( $r = -0.068$ ). The correlation between the egg height and average daily rainfall during the egg-laying period had a medium value ( $r = 0.535$ ,  $p = 0.21587$ ).

The mean number of eggs in one cluster for the seven years ranged from 15.03 to 18.24 (Table II). The greatest mean number of eggs in one cluster was 18.24 in 1993, followed by 17.00 in 1992 and 16.68 in 1995. An analysis of variance did not show significant differences due to year. In 1989, the greatest mean number of eggs in one cluster was found on the date with the highest number of eggs in the year. This was not observed in the next years, and in 1991 the opposite tendency was found. Differences between the dates of observation were insignificant.

The correlation coefficient between mean number of eggs in one cluster and average daily precipitation during the egg-laying period was  $r = -0.281$  ( $p = 0.54084$ ). The correlation coefficient between mean number of eggs in one cluster and average daily temperature was  $r = -0.686$  ( $p = 0.08894$ ).

Table II shows the percentage of plants damaged by the ECB during autumn. The highest number of damaged plants was found in 1993, the lowest in 1990 and 1994. A very strong correlation was obtained between the amount of eggs observed on the maize plants during the season and the percentage of damaged plants in autumn ( $r = 0.894$ ,  $p = 0.00662$ ).

## I. Egg-laying of the European corn borer at the location Nitra during the years 1989-1995

| Year | Date   | Clusters per 100 plants | Eggs per 100 plants | Average number of eggs in one cluster | Average leaf from lower part of the plant |
|------|--------|-------------------------|---------------------|---------------------------------------|---|
| 1989 | 29. 6. | 2                       | 26                  | 13.00 ± 0.707                         | 3.50 ± 0.707                              |
|      | 4. 7.  | 16                      | 268                 | 16.75 ± 5.791                         | 5.82 ± 1.393                              |
|      | 7. 7.  | 7                       | 114                 | 16.29 ± 4.786                         | 6.71 ± 0.488                              |
|      | 11. 7. | 1                       | 14                  | 14.00 ± 0.000                         | 7.00 ± 0.000                              |
|      | 14. 7. | 1                       | 15                  | 15.00 ± 0.000                         | 6.00 ± 0.000                              |
|      | 18. 7. | 1                       | 13                  | 13.00 ± 0.000                         | 7.00 ± 0.000                              |
| 1990 | 26. 6. | 1                       | 15                  | 15.00 ± 0.000                         | 7.00 ± 0.000                              |
|      | 2. 7.  | 4                       | 56                  | 14.00 ± 5.033                         | 5.00 ± 1.414                              |
|      | 5. 7.  | 4                       | 53                  | 13.25 ± 5.188                         | 6.00 ± 1.155                              |
|      | 9. 7.  | 8                       | 113                 | 14.13 ± 5.718                         | 6.25 ± 1.035                              |
|      | 12. 7. | 5                       | 102                 | 20.40 ± 7.197                         | 5.00 ± 1.000                              |
|      | 17. 7. | 3                       | 61                  | 20.33 ± 12.014                        | 8.00 ± 1.732                              |
| 1991 | 1. 7.  | 2                       | 26                  | 13.00 ± 4.240                         | 4.00 ± 1.414                              |
|      | 3. 7.  | 2                       | 38                  | 19.00 ± 2.828                         | 4.50 ± 0.707                              |
|      | 8. 7.  | 4                       | 50                  | 12.50 ± 3.109                         | 5.00 ± 0.816                              |
|      | 11. 7. | 24                      | 338                 | 14.08 ± 6.358                         | 6.50 ± 2.105                              |
|      | 15. 7. | 6                       | 121                 | 20.17 ± 7.859                         | 7.67 ± 1.211                              |
|      | 22. 7. | 2                       | 32                  | 16.00 ± 1.414                         | 8.00 ± 1.414                              |
| 1992 | 21. 6. | 1                       | 15                  | 15.00 ± 0.000                         | 4.00 ± 0.000                              |
|      | 23. 6. | 7                       | 134                 | 19.11 ± 10.971                        | 5.22 ± 0.972                              |
|      | 25. 6. | 6                       | 86                  | 14.33 ± 7.633                         | 5.00 ± 1.264                              |
|      | 28. 6. | 3                       | 38                  | 12.67 ± 3.215                         | 5.67 ± 0.577                              |
|      | 2. 7.  | 2                       | 31                  | 15.50 ± 3.535                         | 6.00 ± 1.414                              |
|      | 4. 7.  | 3                       | 66                  | 22.00 ± 8.888                         | 5.67 ± 0.577                              |
|      | 10. 7. | 1                       | 17                  | 17.00 ± 0.000                         | 6.00 ± 0.000                              |

Table I to be continued

| Year | Date   | Clusters per 100 plants | Eggs per 100 plants | Average number of eggs in one cluster | Average leaf from lower part of the plant |
|------|--------|-------------------------|---------------------|---------------------------------------|---|
| 1993 | 10. 6. | 4                       | 93                  | 23.33 ± 8.505                         | 4.00 ± 1.000                              |
|      | 13. 6. | 7                       | 117                 | 16.67 ± 4.509                         | 4.67 ± 1.155                              |
|      | 16. 6. | 3                       | 48                  | 16.00 ± 4.336                         | 6.00 ± 2.000                              |
|      | 20. 6. | 12                      | 168                 | 14.00 ± 6.812                         | 5.50 ± 1.378                              |
|      | 23. 6. | 18                      | 396                 | 22.00 ± 8.602                         | 5.00 ± 0.816                              |
|      | 29. 6. | 15                      | 324                 | 21.63 ± 7.726                         | 4.88 ± 1.126                              |
|      | 3. 7.  | 12                      | 192                 | 16.00 ± 4.733                         | 5.50 ± 1.049                              |
|      | 7. 7.  | 14                      | 161                 | 11.50 ± 3.109                         | 4.75 ± 1.500                              |
|      | 12. 7. | 11                      | 192                 | 17.45 ± 6.773                         | 5.45 ± 1.293                              |
| 1994 | 20. 6. | 5                       | 98                  | 19.60 ± 3.503                         | 2.40 ± 0.547                              |
|      | 23. 6. | 7                       | 95                  | 13.57 ± 5.563                         | 3.71 ± 0.951                              |
|      | 27. 6. | 2                       | 40                  | 20.00 ± 0.000                         | 3.50 ± 0.707                              |
|      | 1. 7.  | 8                       | 140                 | 17.50 ± 5.903                         | 4.25 ± 1.669                              |
|      | 4. 7.  | 5                       | 65                  | 13.00 ± 4.472                         | 4.40 ± 1.516                              |
|      | 7. 7.  | 5                       | 61                  | 12.20 ± 4.266                         | 3.60 ± 0.547                              |
|      | 11. 7. | 3                       | 39                  | 13.00 ± 1.732                         | 5.33 ± 1.154                              |
|      | 14. 7. | 1                       | 20                  | 20.00 ± 0.000                         | 6.00 ± 0.000                              |
| 1995 | 27. 6. | 8                       | 152                 | 19.00 ± 6.590                         | 4.38 ± 0.916                              |
|      | 29. 6. | 6                       | 82                  | 13.67 ± 3.786                         | 5.00 ± 1.000                              |
|      | 3. 7.  | 15                      | 252                 | 16.80 ± 5.931                         | 5.26 ± 2.344                              |
|      | 7. 7.  | 16                      | 260                 | 16.25 ± 9.46                          | 96.06 ± 1.526                             |
|      | 10. 7. | 5                       | 69                  | 13.80 ± 7.791                         | 4.80 ± 1.304                              |
|      | 13. 7. | 3                       | 67                  | 22.33 ± 9.292                         | 5.00 ± 1.732                              |
|      | 17. 7. | 6                       | 102                 | 17.00 ± 5.215                         | 5.33 ± 0.816                              |

II. Egg-laying of the European corn borer at the location Nitra during 1989–1995. Means followed by the same letter in the same column are not significantly different at  $P > 0.05$  (Tuckey's multiple range test)

| Year | 1  | 2    | 3      | 4       | 5  | 6    | 7     |
|------|----|------|--------|---------|----|------|-------|
| 1989 | 28 | 450  | 16.07a | 5.97cd  | 76 | 2.66 | 21.05 |
| 1990 | 25 | 400  | 16.00a | 6.20cd  | 72 | 1.38 | 19.14 |
| 1991 | 40 | 601  | 15.03a | 6.38d   | 73 | 1.39 | 22.04 |
| 1992 | 23 | 381  | 17.00a | 5.39bcd | 80 | 0.40 | 20.82 |
| 1993 | 84 | 1532 | 18.24a | 5.012b  | 98 | 1.00 | 18.28 |
| 1994 | 36 | 558  | 15.50a | 3.92a   | 72 | 0.66 | 21.77 |
| 1995 | 59 | 984  | 16.68a | 5.29bc  | 92 | 0.34 | 21.84 |

1 = number of clusters and eggs on 100 plants during the season

2 = number of eggs and eggs on 100 plants during the season

3 = average number of eggs in one egg cluster

4 = average leaf from lower part of the plant

5 = percent of damaged plants before harvest

6 = amount of rainfall per day during the period between the date three days before the first eggs and the date of last eggs

7 = average daily temperature during the period between the date three days before the first eggs and the date of last eggs

## DISCUSSION

Huber et al. (1928) observed the highest amount of ECB egg clusters on the 6th and 7th plant leaves. Lee (1988) in Alberta found the highest amount of eggs on the 7th leaf when the maize plants were at the 12–14 leaf stage. In the North Rhein lowland the highest amount of egg clusters was found on the leaves of 3rd and 7th stem nodium (Ohnesorge, Reh, 1987), and it was assumed that during hot and dry weather the lower parts of plants were used for egg laying. Chiang and Hodson (1972) reported that at high air temperatures and low relative humidity the ECB moths occur near the ground and lay the eggs more on the lower parts of plants. The present study indicates that egg-laying is influenced by plant maturity. Females rarely lay their eggs on the youngest plant leaves. The eggs on the upper parts of plants

are subjected to direct sunshine and stronger drying which can negatively influence their development. The oldest maize plant leaves are usually not fresh; they may also be contaminated with aphid honey and bits of soil splashed on the leaves during rainfall. Hence the most convenient leaves are those in the middle of the plant. If during egg-laying the plants have fewer leaves, the eggs are laid lower than if the plants are better developed. It is likely that this caused the differences between the years. In 1992, 1993, and 1994 the eggs were found on lower leaves than in the other years. In these years the first eggs were observed earlier in the season when the plants were smaller than during egg-laying in the other years.

The height of the egg clusters was not influenced by average daily temperatures. The correlation coefficient between the height of egg clusters and amount of rainfall, which was moderately strong, ( $r = 0.535$ ,  $p = 0.21587$ ) indicates that in the case of wet weather the ECB females lay their eggs higher on the plant.

The present study showed that the average number of eggs in one cluster was 16.66. In Slovakia B í r o v á (1962) found the average number of eggs in one cluster to be 16.56, in Germany Zw ö l f e r (1929) 17, Eckstein (1934) 14–16, Engel (1971) 20, and Reh and Ohnesorge (1987) 9–14. The results of American authors (P o o s, 1927 – 15.5 and 14.2; Stirret, 1938 – 15.8) indicate that the size of the egg cluster is nearly the same under different climatic conditions. Significant differences were not observed in the size of egg clusters between the years. Interestingly, the correlation coefficient between the size of egg cluster and average daily temperature was negative and moderately strong ( $r = -0.685$   $p = 0.08894$ ). Even if not significant, it suggests that increased temperatures probably negatively influence the number of eggs in one egg cluster of the ECB in southwestern Slovakia.

This study shows that the number of damaged plants during autumn depends on the number of eggs laid on the plants. The correlation is moderately strong. A similar relationship was reported by other authors. Stengel (1969) suggested that chemical control of the ECB has to be applied after the number of plants with eggs is more than 6%. When eggs were found on 16% of plants, the percentage of damaged plants during harvest was more than 90 (A n g l a d e, 1975). As indicated by our previous study (C a g á ň, 1993), the damage of the maize plants is influenced by the weather during development

of young ECB larvae. This study emphasised that the damage depends on the number of eggs, which probably can be affected by the size of pest population.

### Acknowledgement

The authors thank Dipl. Ing. P. Bokor, Mrs. T. Fecenková and Mrs. O. Janovičová for their technical assistance during this study.

### References

- ANGLADE, P.: Corn pest management in Western Europe exemplified by French systems. In: DOLINKA, B. (Ed.): Report of the International Project on *Ostrinia nubilalis*. Phase II. Results, Budapest 1975: 42–46.
- BÍROVÁ, H.: Niektore výsledky štúdia bionómie vijačky kukuričnej (*Pyrausta nubilalis* Hbn.) v oblasti najintenzívnejšieho pestovania kukurice v ČSSR. Práce Lab. Ochr. Rastl., 1962: 85–102.
- CAGÁŇ, E.: Vijačka kukuričná, *Ostrinia nubilalis* Hbn. – škodca kukurice na Slovensku. [Habilitation.] University of Agriculture in Nitra, Slovakia 1993: 344 pp.
- ECKSTEIN, F.: Das Verhältnis von *Pyrausta nubilalis* zu ihrer Wirtspflanze. Z. angew. Entomol., 21, 1934: 65–88.
- ENGEL, H.: Tierische Schädlinge und ihre Bekämpfung. Mais. Ein Handbuch über Produktionstechnik und Ökonomik. BLV Verlagsgesellschaft München, Hrgs. P. Rintelen, 1971: 137–155.
- CHIANG, H. C. – HODSON, A. C.: Distribution of the first-generation corn borer in field corn. J. econ. Entomol., 46, 1953: 68–73.
- CHIANG, H. C. – HODSON, A. C.: Population fluctuations of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, at Waseca, Minnesota, 1948–70. Environm. Entomol., 1, 1972: 7–16.
- HUBER, L. L. – NEISWANDER, C. R. – SALTER, R. M.: The European corn borer and its environment. Ohio agric. Exp. Stn. Bull., 429, 1928: 196 pp.
- HUDON, M. – LEROUX, E. J.: Biology and population dynamics of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) with special reference to sweet corn in Quebec. II. Bionomics. Phytprotection, 67, 1986: 81–92.
- LANGENBRUCH, G. A.: Maiszünslerbekämpfung im Silomais? Gesunde Pflanzen, 39, 1987: 183–193.
- LEE, D. A.: Factors affecting mortality of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hübner), in Alberta. Can. Ent., 120, 1988: 841–853.

- OHNESORGE, B. – REH, P.: Untersuchungen zur Populationsdynamik des Maiszünslers *Ostrinia nubilalis* Hbn. (Lep., Pyralidae) in Baden-Württemberg. I. Populationsstruktur, Apparenz, Verteilung im Habitat. Z. angew. Entomol., 103, 1987: 228–304.
- POOS, F. W.: Biology of the European corn borer and two closely related species in northern Ohio. Ohio J. Sci., 27, 1927: 47–94.
- REH, P.: Untersuchungen zur Populationsdynamik des Maiszünslers *Ostrinia nubilalis* Hbn. [Dissertation.] Hohenheim, 1985: 131 pp.
- REH, P. – OHNESORGE, B.: Untersuchungen zur Populationsdynamik des Maiszünslers *Ostrinia nubilalis* (Lep., Pyralidae) in Baden-Württemberg. II. Fertilität; Mortalität der Larven. J. appl. Ent., 106, 1988: 321–338.
- SORENSEN, C. E. – KENNEDY, G. G. – DUYN, J. W., van – BRADLEY, J. R.: Distribution of second generation European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, egg masses in field corn and relationship to subsequent tunneling damage. Ent. exp. appl., 68, 1993: 15–23.
- STENGEL, M.: Méthode de prévision des attaques pouvant servir dans la lutte contre la pyrale du maïs en Alsace. Rev. Zool. Agric., 68, 1969: 97–100.
- STIRRETT, G. M.: A field study of the flight, oviposition and establishment period in the life cycle of the European corn borer *Pyrausta nubilalis* Hbn. and the physical factors affecting them. IV. The oviposition and establishment periods. Annual cycle of oviposition. Flight and oviposition. Egg mortality and survival. Larval mortality and survival. Sci. Agric., 18, 1938: 568–585.
- WINDELS, M. B. – CHIANG, H. C.: Distribution of second-brood European corn borer egg masses on field and sweet corn plants. J. econ. Ent., 68, 1975: 133.
- ZWÖLFER, W.: Untersuchungen zur Biologie und Bekämpfung des Maiszünslers (*Pyrausta nubilalis* Hb.) in Süddeutschland. II. Teil. Arbeiten a. d. Biol. Reichsanst., 17, 1929: 459–497.

Received November 2, 1996

### Kladienie vajíčok vijačkou kukuričnou, *Ostrinia nubilalis* Hbn.

V práci sme sledovali umiestnenie znášok vijačky kukuričnej na rastlinách kukurice a počet vajíčok v znáške na lokalite Nitra počas rokov 1989–1995. Na začiatku kladienia vajíčok sa znášky nachádzali obyčajne na štvrtom až piatom liste od spodu. V čase vrcholu kladienia vajíčok sa znášky nachádzali obyčajne na piatom až siedmom liste. V rokoch, v ktorých začalo kladienie vajíčok skôr,

boli vajíčka umiestnené v priemere nižšie ako v rokoch, v ktorých sme prvé znášky zistili v neskorších termínoch. Na výšku umiestnenia znášok nemali vplyv priemerné denné teploty, ale korelačný koeficient medzi výškou umiestnenia znášok a zrážkami, ktorý bol stredne silný ( $r = 0,535$ ,  $p = 0,21587$ ) naznačuje, že v prípade vlhšieho počasia sú znášky umiestnené vyššie na rastlinách. Priemerná veľkosť znášok počas siedmich rokov dosiahla 15,03 až 18,24 vajíčok v jednej znáške. Priemerná veľkosť znášky bola 16,66 vajíčok. Pomocou analýzy rozptylu sme zistili, že rok nemal preukazný vplyv na veľkosť znášok. Korelačný koeficient medzi priemernou veľkosťou znášok a priemernou dennou teplotou dosiahol hodnotu  $r = -0,685$  ( $p = 0,08894$ ). Veľmi silný kladný vzťah sme zistili medzi počtom vajíčok na rastlinách a percentom napadnutia rastlín na konci roka ( $r = 0,894$ ,  $p = 0,00662$ ).

vijačka kukuričná; *Ostrinia nubilalis*; kukurica; kladenie vajíčok

---

*Contact address:*

Doc. Ing. Ľudovít Čagaň, CSc., Vysoká škola poľnohospodárska,  
Katedra ochrany rastlín, A. Hlinku 2, 94976 Nitra, Slovenská republika,  
tel.: + 42 87 601, fax: + 42 87 41 14 51, e-mail: kor@afnet.uniag.sk

**INFLUENCE OF A MIXTURE OF THE BENEFICIAL STRAIN  
*Pseudomonas fluorescens* CHAO AND SOME STRAINS  
OF ANTAGONISTIC FUNGI *Trichoderma* spp. IN A SUPPRESSION  
OF *Rhizoctonia solani* DAMPING-OFF DISEASE OF CUCUMBERS  
UNDER CONDITIONS OF NATURAL SOILS\***

Jan VAVŘAČ, Alla MICHALÍKOVÁ, Michal ONDŘEJ<sup>1</sup>

University of Agriculture – Department of Plant Protection, Nitra, Slovakia;

<sup>1</sup>Research Institute of Technical Crops and Legumes, Šumperk, Czech Republic

**Abstract:** Impact studies on a mixture of the beneficial bacterium *Pseudomonas fluorescens* – strain CHAO and some strains of hyperparasitic fungi of *Trichoderma* spp. were carried out under glasshouse conditions in three separate experiments. The trials were conducted in glasshouse cabinets at 75–80% RH, with 16/8 hr light/dark cycle, and temperature at 22/18 °C. We observed a considerable high suppression of damping-off disease of cucumbers caused by *Rhizoctonia solani* with a mixture of both microorganisms in treatments with the bioformulation Trichonitrin. Some treatments were quite inconsistent in their suppressive efficiency of damping-off disease of cucumbers within three experiments conducted separately because of a complexity of interactions between plants and all microorganisms involved. At some treatments with fungal antagonists alone (without addition of *Pseudomonas fluorescens* CHAO) except for those mixtures treated with bacteria and the bioformulation Trichonitrin, there was found higher suppressive efficiency as compared to those treated with mixtures. In treatments with the bioformulation Trichodex alone and/or with a mixture of bacteria, a depression of root growth and/or toxicity on cucumber plants were observed.

suppressiveness; *Rhizoctonia solani* Kuhn; *Trichoderma* spp.; *Pseudomonas fluorescens* CHAO

Soil-borne diseases cause major crop losses in agricultural and horticultural production worldwide. Biological control, or use of beneficial microorganisms to control harmful plant pathogens, offers a positive approach to plant disease management. Biocontrol of root diseases involves introduction

\* This work was supported by grant from the Swiss National Science Foundation No. 7 SLPJO38395.

of beneficial micro-organisms (bacteria and/or fungi) into the soil around plant roots (Simon et al., 1990).

The use of seed treatment with biological agents for controlling soil-inhabiting plant pathogenic fungi is of great importance. Particularly effective biocontrol methods are attributed to fluorescent pseudomonads as antagonists of soil-borne plant pathogens which may act effectively in disease suppression by different modes of action (Defago, Hass, 1990; Keel et al., 1990).

Biocontrol of seedling diseases using nonpathogenic fungi and bacteria has received increasing attention. Antagonistic microorganisms applied to seeds prior to planting colonize the rhizosphere of seedlings and thus are present at or near the pathogens' infection court. There they act by producing antifungal compounds, through hyperparasitism, or by competitively colonizing spermosphere and rhizosphere substrates (Dandurand, Knudsen, 1993).

The task is to identify these microorganisms and use them in effective biological control systems (Simon et al., 1990). These prospects for biological control agents led us to carry out some experiments conducted under greenhouse conditions with potted cucumber plants in non-sterile natural (raw) soil treated with the beneficial micro-organisms (strains of the hyperparasitic fungus *Trichoderma* spp. and the strain of beneficial rhizobacterium *Pseudomonas fluorescens* CHAO).

## MATERIALS AND METHODS

### Bacteria and fungi used in the trials

In our trials we used the beneficial strain of rhizobacterium *Pseudomonas fluorescens* CHAO isolated from the mountainous soils of Morens in Switzerland; it has certain properties of suppressiveness to some soil-borne pathogens. The strain has long been used as a bioprotective bacterial strain and is deposited at the Department of Phytomedizin/Pathologie, ETH – Zurich.

The other microorganisms tested were strains of the hyperparasitic fungus *Trichoderma* spp. Three of them had been already formulated and therefore are listed here as the commercial formulations and/or patented preperates. As

inoculum for disease suppression trials we used an isolate of the fungus *Rhizoctonia solani* Kuhn which is listed here as Rs 160. It originated in the laboratories for phytopathology of CIBA GEIGY, Ltd. in Basel, Switzerland, and is deposited in the collection of plant pathogens at the Department of Phyto-medizin/Pathologie, ETH – Zurich.

#### Maintenance of the micro-organisms

The strains of *Trichoderma* spp. were maintained on PDA media (39 g of Potato dextrose agar, dehydrated, Difco, in 1 000 ml sterile, bidistilled water) at 24 °C in the dark. Monthly, fresh plates of PDA were reinoculated with each strain of *Trichoderma* spp. The strain of *P. fluorescens* CHAO was regularly (every three weeks) taken from the frozen strain's deposits stored at –80 °C, streaked as a fresh culture onto King's B medium, and then kept at 3 °C in the dark.

#### Plant material

We used cucumber seeds of the glasshouse variety Chinensische Schlange (F<sub>1</sub> generation). Seeds were desinfected by shaking them in a 1% solution of sodium hypochlorite for 30 minutes, and pre-germinated for 48 h on water agar (a medium with a minimal content of nutrients: 8.5 g bacteriological agar, Difco, 1 000 ml bidistilled water).

#### Soils used in the experiments

Natural soils were taken from a locality at Eschikon (Canton Zurich). The field site represents a typical Swiss midland soil, a clayey loam (gleyic Cambisol). It is of alluvial origin, with a coarse gravel layer below 0.8 to 1.0 m, overlaid with clayey and loamy layers.

#### Preparation of inocula of the beneficial rhizobacterium

*Pseudomonas fluorescens* CHAO

A droplet of bacterial colony kept on King's B medium at 3 °C was put into a flask filled with 10 ml Luria Broth (LB) liquid medium. The bacteria were cultivated over-night on a rotary shaker. A volume of 200 µl of the bacterial suspension was taken and streaked onto a Petri dish with King's B medium; the plate was incubated for 24 h at 27 °C in the dark.

The strains of antagonistic fungi (*Trichoderma* spp.) used in the experiments

| Strain<br>(commercial formulation<br>or patented preparate)                                      | Origin<br>(provenience)  | Remarks  |
|--|--|--|
| TRICHONITRIN<br>(the patented preparate)   | Dept. of Plant Protection,<br>Univ. of Agric. Nitra, Slovakia  | based on strain B1<br>of <i>T. harzianum</i>                                       |
| SUPRESIVIT<br>(commercial formulation<br>– formulated by Fytovita, Ltd.,<br>Prague, Czech Rep.   | Laboratory for Phytopathology<br>of the Res. Inst. of Technical<br>Crops and Legumes, Šumperk,<br>Czech Rep. | based on two strains<br>of <i>T. harzianum</i>                                     |
| TRICHODEX 25 WP<br>(commercial formulation<br>– formulated by Makhteshim<br>Chemical Works, Ltd. | Dept. of Plant Pathology,<br>Agric. Res. Organization,<br>The Volcani Center, Israel                         | based on the strain<br>of <i>T. harzianum</i><br>isolated from a<br>cucumber fruit |
| <i>Trichoderma harzianum</i><br>strain SO1   | Laboratory for Phytopathology<br>of the Res. Inst. of Technical<br>Crops and Legumes, Šumperk,<br>Czech Rep. | strain isolated from<br>the rhizosphere of<br><i>Faba vulgaris</i>                 |
| <i>Trichoderma viride</i><br>strain V1   | Laboratory for Phytopathology<br>of the Res. Inst. of Technical<br>Crops and Legumes, Šumperk,<br>Czech Rep. | strain isolated from<br>the rhizosphere of<br><i>Faba vulgaris</i>                 |

**Preparation of the delivery medium of *Trichoderma* spp.**

As delivery medium of *Trichoderma* spp. which was finally used for soil treatments we took barley seeds: 100 ml (volume) of barley seeds were put into a 500ml Erlenmeyer flask and autoclaved for 20 min at 121 °C; 50 ml distilled water was added to the seeds and autoclaved again. The sterilised seed was inoculated with three plugs (6 mm in diameter) of a culture of *Trichoderma* spp. taken from the margins of fast growing colonies on PDA. Then the seed was incubated for 18–28 days at 24 °C in the dark until the fungus covered the seeds with mycelium.

**Preparation of the inocula of *Rhizoctonia solani* Kuhn**

The inoculum of *R. solani* was prepared by taking three agar plugs (8 mm in diameter) grown on plates with PDA (18–28 day old cultures) and putting them into 300ml Erlenmeyer flasks which contained 25 g of millet seeds

(previously autoclaved twice for 30 min. at 121 °C) and 15 ml of sterile bi-distilled water. Then followed 14 to 21 days of incubation at 24 °C.

Preparation of the soils and inoculations of the soils (soil treatments) with the beneficial bacterium *Pseudomonas fluorescens* CHAO and/or antagonistic (hyperparasitic) *Trichoderma* spp.

One treatment of each experiment was represented by 1 litre (1 000 ml volume) of soil. The fungal antagonists in form of *Trichoderma* spp. were added to the soil in a ratio of 20 g of the fungal delivery medium per 1 liter of soil and thoroughly mixed in to spread it evenly in the soil. This mixture was evenly split into six small plastic pots (90 mm in diameter) in six replications per treatment. Each pot was filled with three successive layers of this soil-mixture: about 2 cm onto which the inoculum of *Rhizoctonia solani* was placed in form of three kernels of inoculated millet; 5–6 cm onto which the pregerminated cucumber seeds were placed (four seeds per pot); last, a covering layer of about 1–1.5 cm of soil. The relative air humidity in the glasshouse cabinets in which the experiments were conducted was kept at 75–80%; the temperature was set at 18 °C for an 8-h night and 22 °C for a 16-h day. To each treatment (six replications) was added a volume of 200 ml distilled water at the beginning of the trial. Over the whole experimental 14 day period of a given trial the soil in the pots was kept sufficiently moist by even watering (total volume of water added: 800 ml, incl. the initial dose). After 14 days each plant (if not completely damaged due to *R. solani* damping-off disease after emergence) was assessed at the hypocotyl for symptoms of *R. solani* damping-off disease, and then fresh weights of roots, shoots and plants were measured. Statistical evaluation was performed by Analysis of Variance and the Tukey multiple range test at a 5% level of significance.

## RESULTS

In the first trial, treatment with a mixture of the beneficial bacterium *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO and the antagonistic saprophytic fungi *Trichoderma* spp. (all tested strains) was definitely better in the suppression of *R. solani* damping-off of cucumbers than treatments with either bacterium or fungus alone. This is evident from the significantly higher fresh weight of shoots, roots and plants over those of the control treatment with the pathogen

## I. Influence of the treatment with antagonistic microorganisms of the fresh weight of cucumbers grown under conditions of natural soil in glasshouse (TukeyHSD interval)

| Experiment | Treatment designation | Shoot weight [g] |                   | Root weight [g] |                   | Plant weight [g] |                   |
|------------|-----------------------|------------------|-------------------|-----------------|-------------------|------------------|-------------------|
|            |                       | average          | homogenous groups | average         | homogenous groups | average          | homogenous groups |
| I          | 1                     | 3.155            | abc               | 3.165           | a                 | 6.320            | abc               |
|            | 2                     | 2.276            | a                 | 1.743           | a                 | 4.019            | a                 |
|            | 3                     | 2.656            | a                 | 1.881           | a                 | 4.537            | ab                |
|            | 4                     | 3.153            | abc               | 2.033           | a                 | 5.186            | abc               |
|            | 5                     | 3.368            | abc               | 2.698           | a                 | 6.066            | abc               |
|            | 6                     | 3.310            | abc               | 2.547           | a                 | 5.857            | abc               |
|            | 7                     | 3.725            | abc               | 3.076           | a                 | 6.801            | abc               |
|            | 8                     | 2.827            | ab                | 2.149           | a                 | 4.975            | abc               |
|            | 9                     | 2.931            | ab                | 2.660           | a                 | 5.590            | abc               |
|            | 10                    | 3.145            | ab                | 2.346           | a                 | 5.491            | abc               |
|            | 11                    | 3.098            | ab                | 2.390           | a                 | 5.489            | abc               |
|            | 12                    | 4.325            | bc                | 3.246           | a                 | 7.571            | bc                |
|            | 13                    | 4.882            | c                 | 3.516           | a                 | 8.198            | c                 |
| II         | 1                     | 4.420            | e                 | 3.032           | e                 | 7.451            | e                 |
|            | 2                     | 2.874            | abcde             | 1.660           | bcd               | 4.533            | bcd               |
|            | 3                     | 2.198            | ab                | 1.300           | abcd              | 3.496            | ab                |
|            | 4                     | 2.513            | abcd              | 1.242           | abc               | 3.755            | abc               |
|            | 5                     | 2.875            | abcde             | 1.987           | bcd               | 4.862            | bcd               |
|            | 6                     | 3.993            | de                | 2.304           | de                | 6.296            | de                |
|            | 7                     | 2.746            | abcd              | 1.730           | bcd               | 4.477            | bcd               |
|            | 8                     | 3.827            | cde               | 2.272           | de                | 6.099            | cde               |
|            | 9                     | 2.918            | abcde             | 2.212           | cde               | 5.130            | bcde              |
|            | 10                    | 1.565            | a                 | 0.376           | a                 | 1.941            | a                 |
|            | 11                    | 2.289            | abc               | 1.101           | ab                | 3.391            | ab                |
|            | 12                    | 3.165            | bcde              | 1.708           | bcd               | 4.872            | bcd               |
|            | 13                    | 3.340            | bcde              | 2.155           | cde               | 5.495            | bcd               |

Table I to be continued

| Experiment | Treatment designation | Shoot weight [g] |                   | Root weight [g] |                   | Plant weight [g] |                   |
|------------|-----------------------|------------------|-------------------|-----------------|-------------------|------------------|-------------------|
|            |                       | average          | homogenous groups | average         | homogenous groups | average          | homogenous groups |
| III        | 1                     | 2.681            | ab                | 2.647           | d                 | 5.328            | c                 |
|            | 2                     | 2.683            | ab                | 2.075           | bcd               | 4.758            | abc               |
|            | 3                     | 2.501            | ab                | 1.789           | abcd              | 4.290            | abc               |
|            | 4                     | 1.791            | a                 | 0.896           | a                 | 2.686            | a                 |
|            | 5                     | 2.432            | ab                | 1.504           | abcd              | 3.749            | abc               |
|            | 6                     | 2.161            | ab                | 1.452           | abc               | 3.613            | abc               |
|            | 7                     | 2.908            | ab                | 2.346           | cd                | 5.254            | c                 |
|            | 8                     | 2.270            | ab                | 1.470           | abc               | 3.741            | abc               |
|            | 9                     | 1.899            | a                 | 1.144           | ab                | 3.043            | ab                |
|            | 10                    | 2.584            | ab                | 1.641           | abcd              | 4.225            | abc               |
|            | 11                    | 2.151            | ab                | 1.155           | ab                | 3.306            | abc               |
|            | 12                    | 3.228            | b                 | 1.910           | abcd              | 5.139            | bc                |
|            | 13                    | 3.092            | b                 | 1.758           | abcd              | 4.849            | abc               |

## Treatment designation

- 1 = soil (treatment with no microorganisms added)  
 2 = control treatment (pathogen *Rhizoctonia solani* added)  
 3 = *Pseudomonas fluorescens* CHAO plus *Rhizoctonia solani*  
 4 = *Trichoderma viride* plus *Rhizoctonia solani*  
 5 = *Trichoderma viride* plus *Rhizoctonia solani* plus *Pseudomonas fluorescens* CHAO  
 6 = *Trichoderma harzianum* plus *Rhizoctonia solani*  
 7 = *Trichoderma harzianum* plus *Rhizoctonia solani* plus *Pseudomonas fluorescens* CHAO  
 8 = Supresivit plus *Rhizoctonia solani*  
 9 = Supresivit plus *Rhizoctonia solani* plus *Pseudomonas fluorescens* CHAO  
 10 = Trichodex plus *Rhizoctonia solani*  
 11 = Trichodex plus *Rhizoctonia solani* plus *Pseudomonas fluorescens* CHAO  
 12 = Trichonitrin plus *Rhizoctonia solani*  
 13 = Trichonitrin plus *Rhizoctonia solani* plus *Pseudomonas fluorescens* CHAO

Values followed by the same letter are not significantly different at  $P 0.05$

*Rhizoctonia solani* (Table I). However, this difference in activity between the mixture and single organisms was found only in the first trial.

In the second experiment, a considerable and high bioprotective effect against *R. solani* by treatments with *Trichoderma* spp. alone was observed if it was done with *Trichoderma viride* strain V1 and/or the prepareate Supresivit (Table I). In the second and third experiment we recorded a strong toxic effect or at least plant growth retardation after treatment with the prepareate Trichodex alone and/or when treated with a mixture of Trichodex and *P. fluorescens* CHAO, in comparison with the control treatment of *R. solani* (Table I). This was reflected especially in the decreased fresh weight of roots. Again in comparison with the control treatment with *R. solani*, *P. fluorescens* CHAO plus the bioformulation Trichonitrin was the only mixture that consistently gave a higher effectivity in suppression of damping-off in all three experiments that were carried out at different times of the year (Table I). The exception was the decreased fresh weight of roots in the third trial; this was related to this mixture as shown in Table I. Plant growth was strongly stimulated by treatments with *Trichoderma* spp., except for treatments with Trichodex (data not shown).

## DISCUSSION

The biocontrol potential of mycelial preparations of *Trichoderma* spp. against a variety of plant diseases is well documented (Hadar et al., 1979; Elad et al., 1980; Lewis, Papavizac, 1985). Under certain conditions, application of an antagonist by a delivery medium can control plant pathogens more effectively than by a conidial suspension of the same antagonist (Elad et al., 1980). Similarly, some strains of fluorescent pseudomonads may be effective in disease suppression of an array of fungal pathogens (Weller, Cook, 1983; Kwok et al., 1987; Dandurand, Knudsen, 1993). The mechanisms of disease suppression by fluorescent pseudomonads may be mediated in part by production of antibiotics and/or siderophores (Weller et al., 1988).

When testing the effectiveness of the mixtures of the beneficial bacterium *P. fluorescens* CHAO with some strains of the hyperparasitic saprophytic fungi *Trichoderma* spp. that are antagonistic to phytopathogenic fungi, we observed in our experiments different interactions that appeared related to the treatments (as shown in the tables).

The effects of treatments with some mixtures of *P. fluorescens* CHAO with certain strains of *Trichoderma* spp. were not significantly different from treatment with the *Trichoderma* spp. alone. This agrees with the results of other researchers that dealt with a similar topic, and also supports the idea that the biocontrol mechanism of *P. fluorescens* CHAO neither inhibited nor enhanced the biocontrol activity of *Trichoderma* spp. (Dandurand, Knudsen, 1993). Under conditions of natural soils it had been observed often that there was less disease suppression by a mixture of the antagonists, suggesting a possible inhibition of *Trichoderma* spp. by indigenous soil microbes. Similar effects could have been also caused by siderophores of the pseudomonads which are antagonistic to soil fungi, particularly under conditions of soil deprivation (Hubbard et al., 1983; Bin et al., 1991).

More consistent effects of disease suppression of a variety of plant pathogens were attained by treatments with fluorescent pseudomonads under conditions of fumigated soils compared to natural (raw) soils (Weller, Cook, 1983). This is also supported by investigations of Harman and co-workers who found that a combination of two different fungal antagonists may be less effective than treatment with one fungal antagonist alone (Harman et al., 1980). Similar results concerning positive effects of the bioformulation Trichonitrin applied on seeds of winter wheat with the aim to decrease the damage of wheat seedlings by fusarial diseases have been reported by Michalíková (1995). We have also found that one combination of the mixture of the investigated antagonists (*P. fluorescens* CHAO × Trichonitrin) was consistently more effective than the fungal isolate alone under conditions of natural soils. Similar results were obtained by other researchers (Kwok et al., 1987). This observation is challenging and could possibly enhance the future search for potential biocontrol agent mixtures.

Treatments of natural soils with the fungal antagonists *Trichoderma* spp. alone (data not shown) evidently stimulated the growth of cucumber plants. This phenomenon has also been reported by other workers (Chet, 1987; Baker, 1988; Coley-Smith et al., 1991; Latunde-Dada, 1993; Ousley et al., 1994).

The results of this study suggest that some mixtures of bacterial and fungal antagonists may have a potential for biocontrol in glasshouse environments (e.g. the combination *P. fluorescens* CHAO × Trichonitrin). However, under

(e.g. the combination *P. fluorescens* CHAO x Trichonitrin). However, under certain conditions there can also occur a retardation of plant growth or even phytotoxicity. This appears to be related to the disease suppression mediated by an interaction of antagonists due to their different modes of action in the soil, even though *in vitro* assays under laboratory conditions gave promising results (data not shown). There is an enormous variability in the interactions of the antagonists and plant pathogenic microbes in disease suppression tests in the soil even under conditions of greenhouse experiments. This phenomenon has been well documented by many authors that performed *in vitro* antagonism tests. This may be true especially for interactions of *Trichoderma* spp. x *Rhizoctonia solani* isolates in which a single isolate of *Trichoderma* spp. can be highly effective against one isolate of the pathogenic species, but may have only minimal effects on other isolates of the same species (Bell et al., 1982).

#### Acknowledgment

The authors would like to express their appreciation to Dr. Christoph Keel and Marcello Zala for their kind and thorough assistance.

#### Literature

- BAKER, R.: *Trichoderma* spp. as plant-growth stimulants. CRC Critic. Rev. Biotechnol., 7 (2), 1988: 97–106.
- BELL, D. K. – WELLS, H. D. – MARKHAM, C. R.: *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology, 72, 1982: 379–382.
- BIN, L. – KNUDSEN, G. R. – ESCHEN, D. J.: Influence of an antagonistic strain of *Pseudomonas fluorescens* on growth and ability of *Trichoderma harzianum* to colonize *Sclerotinia sclerotiorum* in soil. Phytopathology, 81, 1991: 994–1000.
- COLEY-SMITH, J. R. – RIDOUT, C. J. – MITCHELL, C. M.: Control of bottom rot disease of lettuce (*Rhizoctonia solani*) using preparations of *Trichoderma viride*, *T. harzianum* or tolclofos-methyl. Plant Pathol., 40, 1991: 359–66.
- DANDURAND, L. M. – KNUDSEN, G. R.: Influence of *Pseudomonas fluorescens* on hyphal growth and biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* in the spermosphere and rhizosphere of pea. Phytopathology, 83, 1993: 265–270.
- DEFAGO, G. – HAAS, D.: Pseudomonads as antagonists of soil-borne plant pathogens: Modes of Action and Genetic Analysis. Soil Biochemistry. Vol. 6. New York and Basel, Marcel Dekker, Inc. 1990.

- HADAR, Y. – CHET, I. – HENIS, Y.: Biological control of *Rhizoctonia solani* damping-off with wheat bran culture of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, 69, 1979: 64–68.
- HARMAN, G. E. – CHET, I. – BAKER, R.: *Trichoderma hamatum* effects on seed and seedling disease induced in radish and pea by *Pythium* spp. or *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 70, 1980: 1167–1172.
- HARMAN, G. E. – CHET, I. – BAKER, R.: Factors affecting *Trichoderma hamatum* applied to seeds as a biocontrol agent. *Phytopathology*, 71, 1981: 569–572.
- HUBBARD, J. P. – HARMAN, G. E. – HADAR, Y.: Effect of soilborne *Pseudomonas* spp. on the biocontrol agent, *Trichoderma hamatum*, on pea seeds. *Phytopathology*, 73, 1983: 655–659.
- CHET, I.: *Trichoderma* – application, mode of action, and potential as biocontrol agent of soil-borne plant pathogenic fungi. In: CHET, I. (Ed.): *Innovative Approaches to Plant Disease Control*. New York, John Wiley and Sons 1987: 137–60.
- KEEL, C. – WIRTHNER, Ph. – OBERHANSKI, Th. – VOISARD, C. – BURGER, HAAS, D., – DEFAGO, G.: *Pseudomonads* as antagonists of plant pathogens in the rhizosphere: Role of the antibiotic 2,4-Diacetylphloroglucinol in the suppression of Black root rot of tobacco. *Symbiosis*, 9, 1990: 327–341.
- KWOK, O. C. H. – FAHY, P. C. – HOITING, H. A. – KUTER, G. A.: Interactions between bacteria and *Trichoderma hamatum* in suppression of *Rhizoctonia* damping-off in bark compost media. *Phytopathology*, 77, 1987: 1206–1212.
- LATUNDE-DADA, A. O.: Biological control of southern blight disease of tomato caused by *Sclerotium rolfsii* with simplified mycelial formulations of *Trichoderma konigii*. *Plant Pathol.*, 42, 1993: 522–529.
- LEWIS, J. A. – PAPA VIZAS, G. C.: Effect of mycelial preparations of *Trichoderma* and *Gliocladium* on populations of *Rhizoctonia solani* and the incidence of damping-off. *Phytopathology*, 75, 1985: 812–817.
- OUSLEY, M. A. – LYNCH, J. M. – WHIPS, J. M.: Potential of *Trichoderma* spp. as consistent plant growth stimulators. *Biol. Fertil. Soils*, 17, 1994: 85–90.
- MICHALÍKOVÁ, A.: The influence of a biopreparation Trichonitrin on the growth and development of winter wheat during the seedling stage. *Acta fytotechn. Univ. Agric. (Nitra)*, L-Enclosure, 1995, s. 125–129.
- SIMON, A. – RYDER, M. – HARRIS, A.: Biological control of soil-borne root diseases for increased plant production. CSIRO Division of Soils, Soils Brief No. 4, 1990.
- WELLER, D. M. – COOK, R. J.: Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads. *Phytopathology*, 73, 1983: 463–469.
- WELLER, D. M. – HOWIE, W. J. – COOK, R. J.: Relationship between *in vitro* inhibition of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and suppression of take-all of wheat by fluorescent pseudomonads. *Phytopathology*, 78, 1988: 1094–1100.

Received June 17, 1996

**Vplyv ošetrovania pôdy zmesami antagonistických baktérií  
*Pseudomonas fluorescens* – kmeň CHAO a hyperparazitických húb  
*Trichoderma* spp. na supresiu huby *Rhizoctonia solani*  
v skleníkových podmienkach v patosystéme s uhorkami**

Štúdium bioochranných vlastností zmesi baktérií *Pseudomonas fluorescens* CHAO a hyperparazitických húb *Trichoderma* spp. sa uskutočnilo v skleníkových podmienkach v rámci troch v nadväznosti uskutočnených experimentov. Pokusy sa realizovali v skleníku pri relatívnej vlhkosti vzduchu 75–80 %, pri svetelnom režime 16/8 hodín svetlo/tma, pri teplote 22/18 °C (deň/noc). V pokusoch sme zaznamenali pomerne vysokú účinnosť zmesi antagonistických mikroorganizmov, výsledkom ktorých bolo výrazné zníženie poškodenia rastlín hubou *Rhizoctonia solani* Kuhn predovšetkým pri variante ošetrovania zmesou baktérií *Pseudomonas fluorescens* a biopreparátu Trichonitrin. Pri niektorých variantoch ošetrovania antagonistickými mikroorganizmami sme zistili vysokú variabilitu bioochrannej účinnosti zmesi v rámci troch nezávislých experimentov vzhľadom na zložité interakcie v systéme patogén – antagonist – rastlina. Pri niektorých variantoch s aplikáciou hyperparazitických húb z rodu *Trichoderma* bez aplikácie baktérií *Pseudomonas fluorescens* CHAO sa prejavil efekt zvýšenej bioochrannej účinnosti voči napadnutiu uhoriek hubou *Rhizoctonia solani* v porovnaní s variantami ošetrovanými zmesou antagonistických mikroorganizmov. Aplikácia biopreparátu Trichodex, ako aj zmes baktérií *Pseudomonas fluorescens* CHAO a uvedeného biopreparátu, nevykazovali bioochrannú účinnosť, a naopak, sa prejavili silnou retardáciou a depresiou rastu koreňového systému, resp. až toxickým účinkom k rastlinám uhoriek.

supresivita; *Rhizoctonia solani* Kuhn; *Trichoderma* spp.; *Pseudomonas fluorescens*

---

**Contact address:**

Ing. Jan Vavrač, CSc., Vysoká škola poľnohospodárska, Agronomická fakulta,  
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika,  
tel.: + 42 87 601 1. 257, fax: + 42 87 41 14 51, e-mail: Vavrac@afnet.uniag.sk

**VLIV EXTRAKTŮ ZE *Zingiber officinale* Roscoe NA REPRODUKCI VIRU MOZAIKY TABÁKU V LISTECH A MEZOFYLOVÝCH PROTOPLASTECH *Nicotiana tabacum* L.**

**The Effect of Extracts from *Zingiber officinale* Roscoe on Multiplication of Tobacco Mosaic Virus in Leaves and Mesophyll Protoplasts of *Nicotiana tabacum* L.**

Milada ŠINDELÁŘOVÁ, Lenka NEZBEDOVÁ<sup>1</sup>, Vladimír TÁBORSKÝ<sup>1</sup>,  
Lenka BURKETOVÁ, Luděk ŠINDELÁŘ

*Institute of Experimental Botany Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague;*  
<sup>1</sup>*Czech Agricultural University, Prague, Czech Republic*

**Abstract:** The effect of water and acetone extracts from ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) with respect to tobacco mosaic virus (TMV) multiplication in *in vitro* infected mesophyll protoplasts of tobacco was investigated. Both extracts at a resultant dilution 1 : 10 inactivated purified TMV and PVX to 67–87% of the control, acetone extract still inactivated TMV and PVX at a dilution 1 : 50 (75–88% of untreated control). Acetone extract did not influence the number of *in vitro* inoculated and noninoculated mesophyll protoplasts and its viability after 72 hour cultivation in any of the concentrations used. The TMV content was significantly reduced in relation to extract concentration in inoculated protoplasts. The extract at a resultant dilution 1 : 100 decreased TMV content in *in vitro* inoculated protoplasts to 87.3%, at 1 : 30 to 80.8% and at 1 : 10 to 57.7% of the values of TMV content determined in infected untreated protoplasts.

*Zingiber officinale* Roscoe; *Nicotiana tabacum* L.; tobacco mosaic virus (TMV); potato virus X (PVX); TMV and PVX content

**Abstrakt:** Byl studován vliv vodných a acetonových extraktů ze zázvoru (*Zingiber officinale* Roscoe) na reprodukci viru mozaiky tabáku (TMV) v mezofylových protoplastech tabáku infikovaných *in vitro*. Oba extrakty ve výsledném ředění 1 : 10 inaktivovaly purifikáty TMV i PVX na 67–87 % kontroly, acetonový extrakt ještě v ředění 1 : 50 (75–88 % neošetřené kontroly). Acetonový extrakt ze zázvoru po 72 hodin kultivace neovlivnil počet inokulovaných i neinokulovaných mezofylových protoplastů tabáku ani jejich viabilitu v žádné z použitých koncentrací. Obsah TMV v protoplastech inokulovaných *in vitro* byl

extraktem ze zázvoru statisticky významně snížen, při výsledném ředění 1 : 100 na 87,3 %, 1 : 30 na 80,8 % a 1 : 10 na 57,7 % hodnot obsahu TMV nalezeného u infikovaných protoplastů extraktem neošetřených.

*Zingiber officinale* Roscoe; *Nicotiana tabacum* L.; virus mozaiky tabáku (TMV); X virus bramboru (PVX); obsah TMV a PVX

V poslední době nabývají stále většího významu rostlinné látky, které působí nejen jako přírodní ochrana proti rostlinným patogenům, ale jsou využívány i v humánní medicíně pro své výrazné antifungální a antimikrobiální vlastnosti. Mezi významné rostliny, u kterých byly tyto látky objeveny a popsány (Sakamura et al., 1986), patří *Zingiber officinale*, tropická rostlina z čeledi rostlin zázvorovitých, rod *Zingiber*. Oddenky této rostliny obsahují zingiberen, zingeron, fellandren, kamfen, zingiberol a jeho estery, farnesen, kurkumen,  $\beta$ -bis-abolen, 1,8-cineol, borneol, linalool, terpinen, terpineol, nerol, geranylacetát, geraniol, geranial a geranyl. V kulturách pěstovaných *in vitro* bylo možné jejich obsah a vzájemný poměr regulovat podmínkami kultivace. Antifungální aktivitu zázvoru proti některým chorobám rýže studoval Miah (1990), který našel až 50% inhibici nárůstu mycelia *Gerlachia oryzae*.

Vliv těchto inhibičních látek nebyl dosud zkoumán v souvislosti s rostlinnými viry, a proto jsme se v této práci zaměřili na studium vlivu extraktů z pokusné rostliny *Zingiber officinale* Roscoe na reprodukci viru mozaiky tabáku (TMV) v mezofylových protoplastech připravených z tabáku.

## MATERIÁL A METODY

Experimentální rostliny tabáku (*Nicotiana tabacum* L., cv. Samsun) a zázvoru (*Zingiber officinale* Roscoe) jsme pěstovali v zemině za konstantních podmínek při osvětlení  $60 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (12L:12D) a průměrné teplotě 25 °C. Rostliny zázvoru jsme vypěstovali z vlastních viruprostých explantátů.

Mezofylové protoplasty tabáku jsme připravili podle metody, kterou jsme popsali v předchozí práci (Šindelářová, Šindelář, 1994), v níž jsme také popsali metody inokulace a inkubace protoplastů a imunoenzymatického stanovení procenta jejich inokulace (všechny procedury jsme prováděli za sterilních podmínek). Kvalitu protoplastů jsme sledovali mikroskopicky, je-

jich počet jsme stanovili v Bürkerově hemocytometru a počet živých protoplastů barvením methylenovou modří podle metody, kterou popsali H o o l e y a M c C a r t h y (1980). Hodinu inokulace jsme označili jako nultou.

Vodný extrakt z rostlin zázvoru jsme připravili homogenizací rostlinných pletiv v poměru 1 : 5 (hmotnost/objem) s vodou v homogenizátoru Virtis a jeho filtrací. Acetonový extrakt jsme připravili stejným způsobem, výsledný filtrát jsme za vakua při 30 °C odpařili dosucha a rozpustili ve stejném objemu etylalkoholu.

TMV a PVX jsme purifikovali podle metod, které popsali G o o d i n g a H e b e r t (1967), resp. B o x (osobní sdělení). Obsah těchto virů jsme určili pomocí kvantitativní metody DAS-ELISA (C l a r k , A d a m s , 1977). Obsahy virů jsme stanovovali z kalibračních křivek využívajících purifikovaných TMV a PVX podle počítačového software, který popsal M a n ě a l (1987).

Při studiu vlivu extraktů ze zázvoru na inaktivaci TMV a PVX jsme postupovali tak, že jsme k 1 ml příslušně zředěného extraktu přidali suspenzi purifikovaného TMV či PVX a po 24 hodinách působení jsme v suspenzi stanovili obsahy virů kvantitativní metodou DAS-ELISA. Při studiu vlivu acetonového extraktu ze zázvoru na počet živých mezofylových protoplastů tabáku a na obsah TMV po jejich inokulaci jsme testovaný extrakt přidávali přímo do inokulačního média a stanovení jsme prováděli po 72 hodinách kultivace.

Výsledky jsou uvedeny jako aritmetické průměry tří až sedmi stanovení, jejich statistické hodnocení charakterizuje t-test. Hodnoty *P* jsou v tabulkách charakterizovány těmito symboly: \* diference je statisticky významná při  $0,01 \leq P < 0,05$ ; \*\* při  $P < 0,01$ ; \*\*\* při  $P \leq 0,001$  (údaje bez symbolu nejsou statisticky významné).

Enzymy potřebné k přípravě protoplastů (SERVA Heidelberg, SRN) jsme stejně jako purifikát TMV a poly-L-ornithin o MW 118 000 za chladu sterilizovali filtrací přes filtr s póry o velikosti 0,45  $\mu\text{m}$ . Ostatní biochemikálie jsme získali od firmy SIGMA (St. Louis, USA).

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Vodný i acetonový extrakt ze zázvoru ve výsledném ředění 1 : 10 statisticky významně inaktivoval TMV i PVX v purifikátech těchto virů (na 67–87 %

kontroly), acetonový extrakt ještě v ředění 1 : 50 (75–88 % neošetřené kontroly) (tab. I).

I. Vliv vodného a acetonového extraktu ze *Zingiber officinale* Roscoe na inaktivaci TMV a PVX – The effect of water and acetone extract from *Zingiber officinale* Roscoe on TMV and PVX inactivation

| Virus <sup>1</sup> | Ředění extraktu <sup>2</sup> | Obsah viru <sup>3</sup> [ng/ml] |                             |                                |
|--------------------|------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
|                    |                              | kontrola <sup>4</sup>           | vodný extrakt <sup>5</sup>  | acetonový extrakt <sup>6</sup> |
| TMV                | –                            | 727,56 ± 21,58<br>(100 %)       |                             |                                |
|                    | 1 : 10                       |                                 | 630,90 ± 48,53<br>(86,7 %)  | 490,27 ± 18,92**<br>(67,4 %)   |
|                    | 1 : 50                       |                                 | 656,10 ± 49,03<br>(90,2 %)  | 545,20 ± 57,16**<br>(74,9 %)   |
| PVX                | –                            | 464,50 ± 5,60<br>(100 %)        |                             |                                |
|                    | 1 : 10                       |                                 | 365,15 ± 9,70**<br>(78,6 %) | 395,60 ± 15,85**<br>(85,2 %)   |
|                    | 1 : 50                       |                                 | 389,40 ± 40,94<br>(83,8 %)  | 409,70 ± 10,35**<br>(88,2 %)   |

<sup>1</sup>virus; <sup>2</sup>extract dilution; <sup>3</sup>virus content; <sup>4</sup>control; <sup>5</sup>water extract; <sup>6</sup>acetone extract

Acetonový extrakt ze zázvoru, který vzhledem k polárnosti rozpouštědla obsahuje více účinných látek než extrakt vodný, po 72 hodin kultivace neovlivnil počet inokulovaných i neinokulovaných mezofylových protoplastů tabáku ani jejich viabilitu v žádné z použitých koncentrací. Snížil však statisticky významně v závislosti na své koncentraci obsah TMV v protoplastech inokulovaných *in vitro* tímto virem (extrakt o výsledném ředění 1 : 100 na 87,3 %, 1 : 30 na 80,8 % a 1 : 10 na 57,7 % hodnot obsahu TMV nalezeného u infikovaných protoplastů extraktem neošetřených – tab. II, obr. 1 a 2). Počet protoplastů infikovaných TMV přitom přesahoval 68 % (v průměru 77,8 ± 8,6 %).

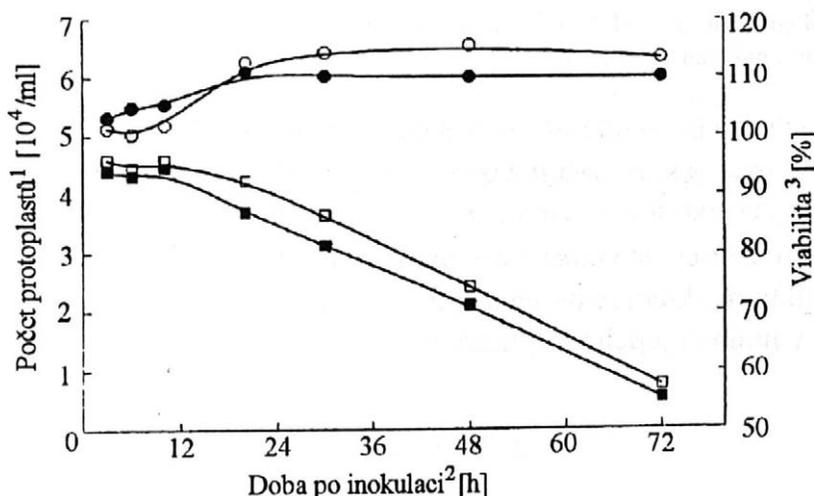
Rostlinné účinné látky, které jsou součástí vodných a acetonových extraktů z rostliny *Z. officinale* Roscoe, mají nejen aktivitu antifungální a antimikrobiální (Miah, 1990; Sakamura et al., 1986), ale podle našich výsledků i antivirovou. Acetonový extrakt ze zázvoru je zřejmě schopen inhibovat bio-

II. Vliv acetonového extraktu ze *Zingiber officinale* Roscoe na počet živých mezofylových protoplastů tabáku v 72. hodinu kultivace – The effect of acetone extract from *Zingiber officinale* Roscoe on the number of living tobacco protoplasts at the 72nd hour of cultivation

| Koncentrace extraktu <sup>1</sup><br>[%] | Počet živých protoplastů v 10 ml média <sup>2</sup> [mil.] |  |
|--|--|--|
|  | neinokulované protoplasty <sup>3</sup>                     | protoplasty inokulované TMV <sup>4</sup> |
| 0  | 1,033 ± 0,012  | 1,440 ± 0,029                            |
| 1  | 0,996 ± 0,029  | 1,513 ± 0,063                            |
| 3  | 1,062 ± 0,025  | 1,351 ± 0,046                            |
| 10                                       | 1,040 ± 0,023  | 1,472 ± 0,061                            |

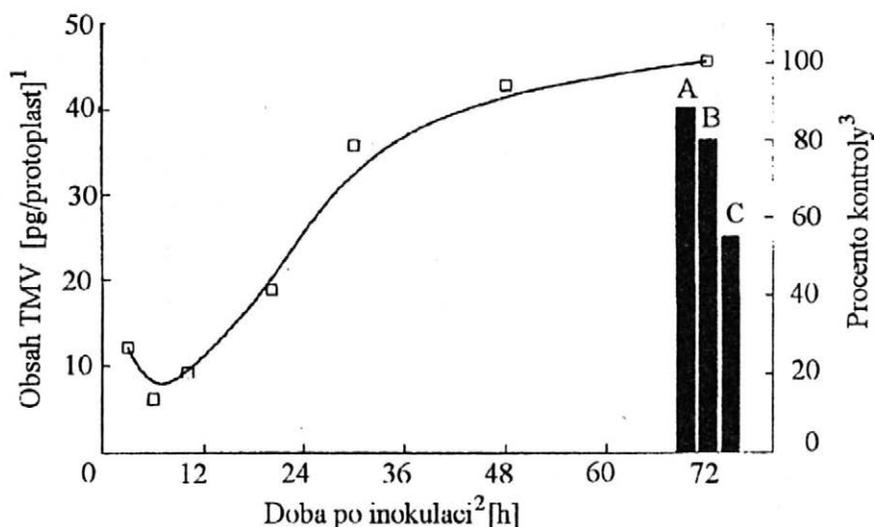
<sup>1</sup>extract concentration; <sup>2</sup>number of living protoplasts in 10 ml media [milions]; <sup>3</sup>noninoculated protoplasts; <sup>4</sup>TMV inoculated protoplasts

syntézu TMV v mezofylových protoplastech tabáku inokulovaných *in vitro*; jeho aplikace do živného roztoku neovlivnila počet a viabilitu kultivovaných protoplastů, zato však ve výsledné koncentraci 1 : 10 snížila obsah TMV až na cca 58 % hodnot nalezených u neošetřených infikovaných protoplastů



<sup>1</sup>number of protoplasts; <sup>2</sup>time post inoculation [h]; <sup>3</sup>viability

1. Počet (O●) a viabilita (□■) zdravých (O□) a TMV infikovaných (●■) mezofylových protoplastů tabáku v kultivačním médiu – The number (O●) and viability (□■) of healthy (O□) and TMV infected (●■) tobacco mesophyll protoplasts in culture medium



<sup>1</sup>TMV content; <sup>2</sup>time post inoculation [h]; <sup>3</sup>percent of control

2. Reprodukční křivka TMV v *in vitro* inokulovaných mezofylových protoplastech tabáku a obsah TMV v protoplastech kultivovaných s acetonovým extraktem připraveným z kurkumy ve výsledných koncentracích 1 : 100 (A), 1 : 30 (B) a 1 : 10 (C) (vliv extraktů byl statisticky významný pro  $P < 0,01$ ) – TMV multiplication curve in *in vitro* inoculated tobacco mesophyll protoplasts and TMV content in protoplasts cultivated with acetone extract prepared from ginger at final concentrations of 1 : 100 (A), 1 : 30 (B) and 1 : 10 (C). The effect of extracts was statistically significant at the level  $P < 0.01$ .

kontrolních. To by mohlo být způsobeno přímou inaktivací syntetizovaných virových částic, jak naznačují naše výsledky spočívající na aplikaci vodných a acetonových extraktů ze zázvoru přímo na purifikáty TMV a PVX.

Závěrem lze říci, že vodné a acetonové extrakty ze zázvoru vykazují anti-virovou aktivitu, která se projevuje jak v inaktivaci samotných virových částic, tak i v inhibici jejich biosyntézy *in vivo*.

### Literatura

CLARK, M. F. – ADAMS, A. N.: Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. gen. Virol.*, 34, 1977: 473–483.

GOODING, G. V. – HEBERT, T. T.: A simple technique for purification of tobacco mosaic virus in large quantities. *Phytopathology*, 57, 1967: 1285.

- HOOLEY, R. – McCARTHY, D.: Extract from virus infected hypersensitive tobacco leaves are detrimental to protoplast survival. *Physiol. Plant Pathol.*, 16, 1980: 25–38.
- MANČAL, P.: *Metody enzymové imunanalýzy*. Praha, Ústav sér a očkovacích látek 1987.
- MIAH, M. A. T.: Antifungal activity of some plant extracts. *Bangladesh J. Bot.*, 19, 1990: 5–10.
- SAKAMURA, F. – OGIHARA, K. – SUGA, T. – TANIGUCHI, K. – TANAKA, R.: Volatile constituents of *Zingiber officinale* rhizomes produced by *in vitro* shoot tip culture. *Phytochemistry*, 25, 1986: 1333–1335.
- ŠINDELÁŘ, L. – ŠINDELÁŘOVÁ, M.: Effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on tobacco mosaic virus multiplication in tobacco protoplasts and leaf discs. *J. Plant Physiol.*, 144, 1994: 620–622.
- ŠINDELÁŘOVÁ, M. – LOJKOVÁ, M. – TÁBORSKÝ, V. – BURKETOVÁ, L. – ŠINDELÁŘ, L.: Vliv extraktů z *Curcuma longa* L. na reprodukci viru mozaiky tabáku v listech a mezofylových protoplastech tabáku. *Ochr. Rostl.*, 32, 1996: 49–55.
- ŠINDELÁŘOVÁ, M. – ŠINDELÁŘ, L.: Subcellular localization of ribonucleases in tobacco mesophyll protoplasts and its changes induced by infection of PVY. *Biol. Plant.*, 36, 1994: 461–467.

Došlo 23. 4. 1996

---

*Kontaktní adresa:*

RNDr. Milada Šindelářová, CSc., Ústav experimentální botaniky AV ČR,  
Na Karlovce 1, 160 00 Praha 6, Česká republika,  
tel.: 02/24 31 01 08, fax: 02/24 31 01 13, E-mail: [elsindel@site.cas.cz](mailto:elsindel@site.cas.cz)

## Studijní informace 1996

### řada Rostlinná výroba

Tyto publikace shrnují nejnovější poznatky a hlavní trendy  
z oboru rostlinná výroba.

|   |       |
|---|-------|
| Kohout V.: Kulturní rostliny jako plevel následných plodin              | 35 Kč |
| Jirátko J.: Ochrana proti chorobám a škůdcům slunečnice                 | 35 Kč |
| Baier J. a kol.: Význam hořčiku pro výživu rostlin,<br>zvířat a člověka | 35 Kč |
| Flohrová A.: Důsledky nedostatečného hnojení                            | 35 Kč |
| Zelený F.: Síra a její význam pro výživu rostlin                        | 35 Kč |
| Kapitola P.: Hospodaření na nevyužívané zemědělské půdě                 | 35 Kč |
| Prokinová E.: Biologická ochrana proti houbovým<br>chorobám rostlin     | 35 Kč |
| Šálek J.: Vliv závlah odpadními vodami na životní prostředí             | 40 Kč |

Uvedené publikace si můžete objednat na adrese:

Ústav zemědělských a potravinářských informací  
Slezská 7  
120 56 Praha 2

# KRÁTKÁ SDĚLENÍ

## INTERAKCE RZI TRAVNÍ (*Puccinia graminis* Pers. subsp. *graminis*) A PŠENICE OZIMÉ VE SMĚSI ODRŮD\*

Lubomír VĚCHET

*Research Institute of Crop Production, Prague, Czech Republic*

V posledních letech nedošlo v České republice, podobně jako ve středoevropských zemích k silnému výskytu rzi travní. Jak uvádějí Bartoš et al. (1992), zdá se, že tato rez ekonomickým významem nyní ustupuje až za rez pšeničnou a pleovou, a to přes svou vysokou potenciální škodlivost. Na této příznivé situaci se podle těchto autorů nepochybně podílí rezistence značného počtu pěstovaných odrůd k převládajícím rasám rzi travní. Wolfe (1985) uvádí, že používání rozmanitých směsí bylo uvažováno jako možná strategie pro omezení šíření choroby u drobných zmín, ne pouze pro ekonomický prospěch redukující závažnost choroby, ale také pro ekologické ohledy podporující stabilitu populace patogena.

Cílem našeho pokusu bylo zjistit výskyt rzi travní na středně náchylné a středně rezistentní odrůdě, při různém zastoupení obou odrůd ve směsi, dynamiku choroby a její vliv na výnosové prvky.

### MATERIÁL A METODY

Maloparcelkové pokusy ve VÚRV Praha-Ruzyně (nadmořská výška 326 m, průměrná roční teplota 7,7 °C, úhrnné srážky 450 mm) byly založeny ve třech opakováních se středně náchylnou (N) odrůdou Regina a středně rezistentní (R) odrůdou Sparta (předpokládaný gen rezistence *Sr31*) v těchto variantách:

- |                           |                           |
|---------------------------|---------------------------|
| 1. R = 100 %              | 5. R : 2N = 33,3 : 66,7 % |
| 2. N = 100 %              | 6. 3R : N = 75 : 25 %     |
| 3. R : N = 50 : 50 %      | 7. R : 3N = 25 : 75 %     |
| 4. 2R : N = 66,7 : 33,3 % |                           |

Velikost parcely byla 1,1 x 1m. Na parcelu bylo vyseto 200 zm secím strojem Seedmatic 6. Infekce vodní suspensí urediospor rzi travní (rasa 11) do listové pochvy byla provedena 23. 5. 1995. Hodnocení epidemie bylo provedeno ve třech

\* Tento výzkum byl podporován Grantovou agenturou ČR.

časových intervalech. Infekční typy byly hodnoceny ve stupnici 0–4 (Roelfs, 1984). Dále se hodnotil počet napadených rostlin a závažnost choroby v procentech pokrytí listové plochy urediemi rzi (Peterson et al., 1948). Jako míra epidemie byla vzata plocha pod křivkou rozvoje choroby (Shaner, Finney, 1977).

$$\text{AUDPC} = (x_1 + x_2) / 2 \cdot (t_2 - t_1)$$

kde:  $x$  – procento napadení ve dvou časových intervalech (1, 2)

$t$  – čas

Účinnost směsi (Lannou et al., 1994) byla vyjádřena jako relativní rozdíl mezi podílem napadené plochy, vyjádřené AUDPC na náchylném komponentu ve směsi a v čistém stavu:  $\text{effAUDPC} = 1 - (\text{AUDPC mixture} / \text{AUDPC pure stand})$ . Míra spolehlivosti pokusu byla hodnocena analýzou rozptylu.

## VÝSLEDKY

Za 29 dní od infekce rzi travní (první hodnocení) měla nejvíce napadených rostlin (tab. I) varianta 2 (více než 60 %). Podstatně méně napadených rostlin měly ostatní varianty. Za 36 dní od infekce (druhé hodnocení) vzrostl počet napadených rostlin u varianty 2 na 94 %, u ostatních variant na 67 % a méně. Za 50 dní od

I. Průměrný počet rostlin napadených rzi travní (AP) a infekční typy (IT) pšenice ozimé (odrůdy v čistém stavu a ve směsi) – Average number of affected plants (AP) of winter wheat (varietal in pure stand and in mixtures) by stem rust and infection types (IT)

| Varianta | R : N       | 21. 6. |     | 28. 6. |      | 12. 7. |     |
|----------|-------------|--------|-----|--------|------|--------|-----|
|          |             | AP [%] | IT  | AP [%] | IT   | AP [%] | IT  |
| 1.       | 100         | 6,7    | 1,0 | 51,1   | 1,4  | 100,0  | 2,3 |
| 2.       | 100         | 63,4   | 1,2 | 91,1   | 1,9  | 100,0  | 3,2 |
| 3.       | 50 : 50     | 23,4   | 1,0 | 66,7   | 1,3  | 100,0  | 2,2 |
| 4.       | 66,7 : 33,3 | 20,0   | 1,0 | 57,8   | 1,3  | 100,0  | 2,7 |
| 5.       | 33,3 : 66,7 | 15,6   | 1,0 | 55,5   | 1,3  | 100,0  | 2,5 |
| 6.       | 75 : 25     | 6,7    | 1,0 | 44,5   | 1,25 | 97,7   | 2,1 |

II. Závažnost napadení (DS) pšenice ozimé (odrůdy v čistém stavu a ve směsi) rzí travní (% pokrytí listové plochy v průměru na jeden list), napadení předposledního listu (FL-1), napadení praporcového listu (FL), plocha pod křivkou rozvoje choroby (AUDPC), účinnost směsi (effAUDPC), procento napadených klasů (E) – Disease severity (DS) of winter wheat (varieties in the pure stand and in mixtures) by stem rust (average percentage of leaf area affected on one leaf), affection of the leaf under flag leaf (FL-1), affection of flag the leaf (FL), area under disease progress curve (AUDPC), mixture efficacy (effAUDPC), percentage of diseased ears (E)

| Varianta | DS     |       |        | FL   | FL-1 | AUDPC  | effAUDPC | E    |
|----------|--------|-------|--------|------|------|--------|----------|------|
|          | 21. 6. | 28. 6 | 12. 7. |      |      |        |          |      |
| 1.       | 0,03   | 0,7   | 14,0   | 8,0  | 20,0 | 105,89 | –        | 62,2 |
| 2.       | 3,5    | 10,0  | 66,0   | 52,0 | 80,0 | 630,00 | –        | 86,7 |
| 3.       | 0,1    | 0,4   | 14,5   | 12,5 | 20,0 | 107,50 | 82,94    | 75,6 |
| 4.       | 0,1    | 0,6   | 22,3   | 18,5 | 26,0 | 164,20 | 73,94    | 80,0 |
| 5.       | 0,1    | 0,3   | 28,0   | 26,0 | 30,0 | 200,95 | 68,10    | 64,4 |
| 6.       | 0,1    | 0,2   | 15,3   | 11,0 | 14,0 | 111,00 | 82,38    | 62,2 |

infekce (třetí hodnocení) bylo napadeno již 100 % rostlin u všech variant kromě varianty 6, v níž bylo napadeno téměř 98 %.

Všechny rostliny byly napadeny i u varianty 1, monokultury středně rezistentní odrůdy. Rozdíly ve vývoji infekčních typů byly podobné jako u počtu napadených rostlin. Při posledním hodnocení měla nejvyšší infekční typ (středně náchylný) varianta 2., ostatní varianty infekční typy středně rezistentní. Protože varianta 7 měla výrazně nejnižší hodnoty, byla z hodnocení vyřazena. Choroba se vyvíjela (tab. II) nejrychleji u varianty 2, která při posledním hodnocení měla nejvyšší napadení (66 % v průměru na jeden list). U ostatních variant byl vývoj choroby pomalejší a závažnost podstatně nižší. Rozdíly mezi variantami byly také v napadení praporcového listu. Ten byl směsí odrůd o málo více napaden u varianty 3 než u varianty 6, což je obrácené pořadí proti průměrnému napadení jednoho listu při posledním hodnocení. Rozdíly v napadení předposledního listu byly menší.

Podobné relace jako průměrné napadení jednoho listu ukazují i hodnoty AUDPC, které byly nejvyšší u varianty 2. O třetinu nižší byly u varianty 5 s nejvyšším podílem středně náchylné odrůdy ve směsi. Druhou nejvyšší hodnotu AUDPC ze směsi odrůd měla varianta 4. Nejúčinnější v potlačení choroby byla směs odrůd ve variantách 3 a 6, nejméně účinná ve variantě 5. Rez travní napadla u všech variant více

III. Podíl vlivu závažnosti (DS) rzi travní, výnosu zrna (GY) a hmotnosti 1000 zrn (WG) na celkové variabilitě pokusu (odrůdy v čistém stavu a ve směsi) – Proportion of the influence of disease severity (DS), grain yield (GY) and weight of 1000 grains (WG) on the whole variability of the trial (variety in pure stand and varietal mixtures)

| Varianta | DS [%] | DS[%] | GY[g] | GY[g]   | WG[g] | WG[g] |
|----------|--------|-------|-------|---------|-------|-------|
| 1.       | +      | 14,00 | –     | 1053,70 | –     | 31,27 |
| 2.       |        | 64,67 | –     | 453,60  | –     | 26,93 |
| 3.       | +      | 14,23 | –     | 957,30  | –     | 31,80 |
| 4.       | +      | 22,83 | –     | 578,90  | –     | 29,00 |
| 5.       | +      | 27,17 | –     | 716,03  | –     | 29,80 |
| 6.       | +      | 17,30 | –     | 1003,80 | –     | 33,00 |

– neprůkazný – insignificant; + průkazný – significant ( $P < 0.05$ ); ++ vysoce průkazný – highly significant ( $P < 0.01$ )

Podíl vlivu variant (tab. III) na variabilitě pokusu byl vysoce průkazný, podíl vlivu opakování, výnosu zrna a hmotnosti 1000 zrn neprůkazný.

## DISKUSE

Napadení pšenice ozimé rzi travní bylo mnohem závažnější než v podobném pokusu se rzi pšeničnou. Ve směsích odrůd středně náchylné a středně rezistentní narůstal počet napadených rostlin pomaleji oproti odrůdě středně náchylné od prvního do posledního hodnocení, kdy již byly napadeny všechny rostliny. Nejpomaleji se choroba šířila ve směsi se 75% podílem středně rezistentní odrůdy. Zde se, jak uvádí Wolfe (1985), uplatnily dva mechanismy – snížení prostorové hustoty náchylných rostlin a bariérový efekt poskytovaný rezistentními rostlinami. Infekční typ u směsí odrůd byl výsledkem poměru zastoupení náchylné a rezistentní odrůdy. Závažnost napadení rzi travní byla ve směsích odrůd proti středně náchylné odrůdě účinně potlačena, nejvýrazněji u směsi s 50 a 75% zastoupením rezistentní odrůdy.

Rozdíly ve výskytu choroby mezi monokulturou středně náchylné odrůdy a směsmi odrůd byly také u praporcového a předposledního listu. Epidemie podle AUDPC byla ve směsích odrůd podstatně nižší než u monokultury středně náchylné odrůdy. Úroveň epidemie u směsi s 50 a 75% podílem rezistentní odrůdy se blížila epidemii u středně rezistentní odrůdy. Účinnost všech směsí odrůd byla vysoká. Nejvíce napadených klasů měla monokultura středně náchylné odrůdy. Ve směsi

odrád bylo napadeno méně klasů. Směs se 75% zastoupením středně rezistentní odrůdy měla napaden stejný počet klasů jako monokultura středně rezistentní odrůdy, což svědčí o její vysoké účinnosti.

Ukázalo se, že i použití středně rezistentní a středně náchylné odrůdy k určité rase patogena je v potlačení rzi travní účinné.

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

BARTOŠ, P. – STUHLÍKOVÁ, E. – HANUŠOVÁ, R.: Fyziologická specializace rzi travní (*Puccinia graminis* Pers. subsp. *graminis*) v Československu v letech 1987–1990. Ochr. Rostl., 28, 1992: 41–50.

LANNOU, C. – VALLAVIEILLE-POPE, C. – BAISS, C. – GOYEAU, H.: The efficacy of mixtures of susceptible and resistant hosts to two wheat rusts of different lesion size: Controlled condition experiments and computerized simulations. J. Phytopath., 140, 1994: 227–237.

PETERSON, R. F. – CAMPBELL, A. B. – HANNAH, A. E.: A diagramic scale for estimating rust intensity of leaves and stem of cereals. Can. J. Res. Sect C26, 1948: 496–500.

ROELFS, A. P.: Race specificity and methods of study. In: ROELFS, A. P. – BUHNELL, W. R. (Eds.): The Cereal Rusts. Origins, Specificity, Structure and Physiology. Orlando, Academic Press 1984: 131–164.

SHANER, G. – FINNEY, R. E.: The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow – mildewing resistance in Knox wheat. Phytopathology, 67, 1977: 1051–1056.

WOLFE, M. S.: The current status and prospects of multiline cultivars and variety mixture for disease resistance. Ann. Rev. Phytopathol., 23, 1985: 251–273.

Received April 17, 1996

### Interaction of Stem Rust (*Puccinia graminis* Pers. subsp. *graminis*) and Winter Wheat in Varietal Mixtures

The development of stem rust (the race 11) on two components varietal mixtures (the middle Resistant Sparta and the middle Susceptible Regina) was evaluated on small plot trials. There were following variants: 1. R (middle resistant) = 100%, 2. N (middle susceptible) = 100%, 3. R : S = 50 : 50%, 4. 2R : S = 66.7 : 33.3%, 5. R : 2S = 33.3 : 66.7%, 6. 3R : S = 75 : 25%, 7. R : 3S = 25 : 75%. Infection of plants were made in May 23. From epidemiological parameters were evaluated a number of affected plants, infection type, disease severity and AUDPC. The mixtures of varieties mainly one with 75% proportion of middle resistant variety provided significant reducing of the disease. The level of epidemic in mixtures of

varieties with 75 and 50% proportion of the middle resistant variety approached the level of the varietal with middle resistant variety. The mixture of variety with 75% proportion of the middle susceptible variety had diseased the same number of aers such as the variety in the pure stand. It seems that ussing of middle resistant and middle susceptible variety in the variety mixtures is effective.

varietal mixtures; stem rust; epidemiological parameters; yield

---

*Kontaktní adresa:*

Ing. Lubomír Věchet, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby,  
161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika, tel.: 02/36 08 51, fax: 02/ 36 52 28,  
e-mail: hanusova@genbank.vurv.cz

## VYUŽITÍ ODRŮDOVÉ ODOLNOSTI JEČMENE K UDRŽOVÁNÍ KOLEKCE ČISTÝCH PATOTYPŮ PADLÍ TRAVNÍHO

Antonín DREISEITL

*Agricultural Research Institute Kroměříž, Co. Ltd, Kroměříž, Czech Republic*

K mnoha výzkumným aktivitám, které vycházejí z teorie gen proti genu (Flor, 1955) (např. identifikace genů odolnosti v odrůdách, výběry odolných potomstev po křížení a další), jsou nezbytné přesně definované a čisté kultury patogena. Proto je v Zemědělském výzkumném ústavu Kroměříž udržována a průběžně aktualizována pracovní kolekce vybraných patotypů padlí travního na ječmeni (*Erysiphe graminis* DC. f. sp. *hordei* Marchal).

Padlí travní je biotrofní parazit. Energií potřebnou ke svému růstu a rozmnožování je schopno získávat jen z živých rostlin. Izoláty jsou uchovávány ve vegetativním stadiu (klony). Nejvyšší hustotu konidií vytváří na primárních listech. Proto jsou inokulovány zpravidla mladé rostliny (DC 11).

Při laboratorní teplotě ( $20 \pm 2$  °C) je mycelium patrné za čtyři a produkce konidií kulminuje za 7–8 dnů po inokulaci. Proto je u aktivní části kolekce (patotypy, jejichž inokulum je často používáno k uvedeným aktivitám) běžný týdenní interval mezi inokulacemi.

Inokulace je prováděna otěrem napadených rostlin o primární listy inokulovaných rostlin a to v izolátorech (skleněné boxy s kovovým rámem o rozměrech 50 x 50 x 50 cm). V nich jsou jednotlivé patotypy chráněny před kontaminací. Při inokulaci však musí být rostliny přístupné (izolátor je otevřen). Na napadených rostlinách v jednom květináčku bývá řádově  $10^6$  i více konidií. Z nich se při inokulaci dostane velké množství mimo izolátor. Konidie se v klidném vzduchu usazují rychlostí cca 1 cm/s. Je-li proudění vzduchu vyšší např. v důsledku pohybu osob v místnosti, vznášejí se konidie volně v ovzduší. V laboratorních podmínkách (mimo hostitelskou rostlinu) si podržují životaschopnost několik hodin. Při každé inokulaci jsou tedy udržované patotypy vystaveny značnému riziku vzájemné kontaminace.

Patotypy jsou často unikátní. Některé z nich jsou udržovány (a využívány) více než 30 let (Brückner, 1963, 1965). V důsledku diverzity odolnosti v pěstovaných odrůdách velmi vzrostla komplexita středoevropské populace (Wolfe et al., 1992; Dreiseitl, Schwarzbach, 1994). Opětovné získání jednoduchých patotypů je proto v tomto regionu prakticky nemožné. V případě kontaminace unikátních patotypů je jejich opětovná separace zdlouhavá a pracovně náročná. Jednoduché starší

izoláty (s malým počtem virulencí) jsou přitom potřebné např. v počáteční fázi studia odolnosti velkých kolekcí odrůd (vzorků) i jako standardy při studiu změn citlivosti populace k účinným látkám používaných fungicidních přípravků.

Proto byl postupně vypracován systém udržování patotypů padlí travního na ječmeni v čistém stavu (tab. I), který využívá poznatky o odrůdové odolnosti. Pro reprodukci patotypů je pro každý z nich vybrána odrůda s vhodnou odolností, vůči níž však je daný patotyp plně virulentní. Takto vybrané odrůdy s patotypy jsou seřazeny v přesně stanoveném pořadí tak, aby každá následná odrůda sloužila (díky své odolnosti) jako filtr, znemožňující reprodukci předchozích patotypů. Práce v protisměrném či náhodném pořadí vede ke ztrátě ochrany před vzájemnou kontaminací. Proto musí být při všech pracovních úkonech spojených s udržováním kolekce, zvláště však při vlastní inokulaci, dodrženo stanovené pořadí. Pak je spolehlivě zajištěna čistota patotypů, které jsou rychle a relativně levně reprodukovány v potřebném množství.

V systému jsou uplatněny především vybrané domácí odrůdy a novošlechtění, jejichž odolnost je dobře prostudována (Dreiseitl, 1989, 1996a, b, 1997; Dreiseitl, Jorgensen, nepublikováno). Z celkového počtu 14 odrůd zařazených v tab. I jsou čtyři (Amsel, Emir, Ricardo a Sara) zahraniční (Brown, Jorgensen, 1991). Použité odrůdy obsahují celkem jedenáct genů specifické odolnosti k padlí, a to samostatně nebo v kombinaci. Při udržování vyššího počtu komplexních patotypů je třeba k některým z nich použít dvě odrůdy s různou odolností. Použití dvojice odrůd, které jsou v takovémto případě střídavě vysévány k danému patotypu, je často jen dočasné a překlenuje období do získání a reprodukce jiné vhodné odrůdy. Např. patotyp 0524 je v současné době udržován na rostlinách odrůd Emir a Diabas, neboť jako první v pořadí překonává odolnost genů *Mla12* a *Mla7*. Spojení těchto genů v jedné odrůdě brání mnohočetný alelismus *Mla* lokusu. Proto musí být z tohoto pohledu zařazeny dvě odrůdy. Patotyp 0524 však také jako první v pořadí překonává odolnost genu *MLk*. Ten, ač je v evropských odrůdách ječmene jarního často přítomen, nebyl dosud v českých a slovenských odrůdách zjištěn. Proto jsme pro uvedený patotyp vybrali několik možných zahraničních odrůd. Po prověření jejich odolnosti bude některá z nich vybrána a po namnožení nahradí v tomto případě dvojici odrůd Emir – Diabas. Podobně bude nahrazena dvojice Svit – Lumar jednou z linií nšl. CE 817, která bude svojí odolností *Mla1*, *MLLa*, *Mlg* (Dreiseitl, nepublikováno) zárukou čistoty patotypu 5177.

Naopak např. patotypy 7532 a 2776, jejichž čistota je založena na alternativním zařazování odrůd s různými alelami *Mla* lokusu, budou i nadále vyžadovat uvedené či obdobné dvojice odrůd s odlišnými alelami.

I. Příklad řazení odrůd s různými geny specifické odolnosti (filtrační odrůdy) při udržování kolekce patotypů *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* v čistém stavu – An example of ranking varieties with different specific resistance genes (filter varieties) at maintaining the pathotype collection of *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* in pure state

| Po-<br>řadí <sup>1</sup> | Filtrační<br>odrůdy <sup>2</sup> | Ml geny<br>odolnosti <sup>3</sup> | Izoláty <sup>4</sup> |            |            |            |            |            |            |            |            |             |             |             |             |             |             |             |
|--------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|                          |                                  |                                   | 1.<br>0102           | 2.<br>6000 | 3.<br>4114 | 4.<br>4404 | 5.<br>0524 | 6.<br>4047 | 7.<br>0570 | 8.<br>5426 | 9.<br>4322 | 10.<br>4376 | 11.<br>6040 | 12.<br>4563 | 13.<br>7532 | 14.<br>2776 | 15.<br>7375 | 16.<br>5177 |
| 1.                       | Amsel                            | a7, g                             | +                    |            |            |            |            |            |            |            | +          | +           |             | +           | +           | +           |             | +           |
| 2.                       | Ricardo                          | a3                                |                      | +          |            |            |            |            |            |            |            |             | +           |             | +           | +           | +           |             |
| 3.                       | Karát                            | a13                               |                      |            | +          |            |            |            |            | +          |            |             | +           |             | +           | +           | +           | +           |
| 4.                       | Emir                             | a12                               |                      |            |            | +          | +          |            |            | +          | +          |             |             | +           | +           | +           |             |             |
| 5.                       | Emir – Diabas                    | a12-a7                            |                      |            |            |            | +          |            |            | +          |            |             |             | +           | +           | +           |             |             |
| 6.                       | Jaspis                           | a6, at                            |                      |            |            |            |            |            | +          |            |            |             |             | +           |             |             | +           | +           |
| 7.                       | Pax                              | a13, La                           |                      |            |            |            |            |            |            | +          |            |             | +           |             |             | +           | +           | +           |
| 8.                       | Lumar                            | a1, g                             |                      |            |            |            |            |            |            |            | +          |             |             |             | +           |             |             | +           |
| 9.                       | Spartan                          | a9                                |                      |            |            |            |            |            |            |            |            | +           | +           |             |             | +           | +           |             |
| 10.                      | Viktor                           | a13, La, g                        |                      |            |            |            |            |            |            |            |            |             | +           |             |             | +           |             | +           |
| 11.                      | Sara                             | a3 (Tu2)                          |                      |            |            |            |            |            |            |            |            |             |             | +           |             |             |             |             |
| 12.                      | UH 308                           | a12, at                           |                      |            |            |            |            |            |            |            |            |             |             | +           |             |             |             |             |
| 13.                      | Mars – Lumar                     | a3, g-a1, g                       |                      |            |            |            |            |            |            |            |            |             |             |             | +           |             |             |             |
| 14.                      | Mars – Viktor                    | a3, g-a13, La, g                  |                      |            |            |            |            |            |            |            |            |             |             |             |             | +           |             |             |
| 15.                      | Svit                             | a13, at                           |                      |            |            |            |            |            |            |            |            |             |             |             |             |             | +           | +           |
| 16.                      | Svit-Lumar                       | a13, at-a1, g                     |                      |            |            |            |            |            |            |            |            |             |             |             |             |             |             | +           |

315 <sup>1</sup> order; <sup>2</sup> filter varieties; <sup>3</sup> Ml-resistance genes; <sup>4</sup> isolates  
+ virulence

Do systému mohou být včleněny jen dobře prostudované a čisté izoláty a stejně tak dobře prostudované a čisté hostitelské odrůdy. V ideálním případě je jeden patotyp virulentní v kolekci pouze k jedné odrůdě. To však je jev ojedinělý.

Ostatní patotypy (pasivní část kolekce) jsou také udržovány na živých rostlinách filtračních odrůd. Ty však jsou pěstovány (v běžném obchodním rašelinovém substrátu) ve skleněných trubicích při nižším teplotním režimu (0,5–5 °C). Tak je zpomalen vývoj hostitele i patogena a inokulace je nutná za 6 až 10 týdnů, případně za 4 až 6 měsíců. V mezidobí, kdy nejsou prováděny uvedené aktivity (zpravidla v měsících květen–srpen), je v nízkém teplotním režimu udržována celá genová banka patogena. Dochází tak k dalším úsporám lidské práce a osiva příslušných odrůd.

I přes uplatnění uvedeného postupu není uchovávání kultur padlí travního levné. Proto je žádoucí udržovat nízký, ale přitom dostatečný počet originálních izolátů. Pro studium specifických otázek jsou využívány i patotypy z jiných genových bank patogena, které existují v omezeném počtu evropských zemí.

### Literatura

BROWN, J. K. M. – JORGENSEN, J. H.: A catalogue of mildew resistance genes in European barley varieties. In: JORGENSEN, J. H. (Ed.): Integrated Control of Cereal Mildews: Virulence and Their Change. Roskilde, Riso National Laboratory 1991: 263–286.

BRÜCKNER, F.: Padlí travní (*Erysiphe graminis* DC.) na ječmeni. III. Průzkum výskytu fyziologických ras na území ČSSR v letech 1960–61. Rostl. Výr., 9, 1963: 1–8.

BRÜCKNER, F.: Fyziologické rasy padlí travního (*Erysiphe graminis* DC.) na ječmeni, zjištěné v roce 1963 v ČSSR, a možnosti jejich využití při šlechtění na rezistenci. In: Věd. Pr. Výzk. Úst. obiln. v Kroměříži, Praha, 1965: 181–188.

DREISEITL, A.: Odolnost československých odrůd ječmene jarního vůči padlí travnímu (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*). Genet. a Šlecht., 25, 1989: 57–64.

DREISEITL, A.: Powdery mildew resistance of barley varieties grown in the Visegrad – group countries. In: Integrated Control of Cereal Mildews Across Europe, 1996a (v tisku).

DREISEITL, A.: Odolnost k padlí travnímu u vybraných novošlechtění ječmene jarního v mezistaničních zkouškách (1991–1995). Genet. a Šlecht., 32, 1996b: 173–182.

DREISEITL, A.: Odolnost k padlí travnímu u vybraných novošlechtění ječmene ve státních odrůdových zkouškách. Genet. a Šlecht., 33, 1997 (v tisku).

DREISEITL, A. – SCHWARZBACH, E.: Složení populace padlí travního na ječmeni na střední Moravě v roce 1992. Rostl. Výr., 40, 1994: 545–554.

FLOR, H. H.: Host-parasite interaction in flax rust – its genetics and other implications. Phytopathology, 45, 1955: 680–685.

WOLFE, M. S. – BRÄNDLE, U. – KOLLER, B. – LIMPET, E. – McDERMOTT, J. K. – MÜLLER, K. – SCHAFFNER, D.: Barley mildew in Europe: population biology and host resistance. *Euphytica*, 63, 1992: 125–139.

Došlo 26. 6. 1996

### Utilization of Barley Varietal Resistance for Maintaining a Collection of Pure Powdery Mildew Pathotypes

To reproduce pathotypes of *Erysiphe graminis hordei*, we inoculate primary leaves of fresh plants by shaking infected plants over them in isolators (glass boxes). A lot of conidia get out of the isolators and the pathotypes can contaminate each other. Therefore, a variety (a pair of varieties) possessing a suitable resistance, to which a given pathotype is virulent, is selected. The inoculation is performed in such a sequence, so that resistance of each subsequent variety is a filter one and disables any of preceding pathotypes to reproduce (Table I). During the process in other sequence protection against mutual contamination would be lost.

barley; varietal resistance; powdery mildew; collection of pathotypes; pure isolates

---

#### Kontaktní adresa:

Ing. Antonín Dreiseitl, CSc., Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, s.r.o.,  
Havlíčková 2787, Pošt. schr. 55, 767 41 Kroměříž, Česká republika,  
tel.: 0634/42 61 39, fax: 0634/227 25

**Ústav zemědělských a potravinářských informací**

vydal

## **ZAHRADNICKÝ NAUČNÝ SLOVNÍK**

Slovník je koncipován jako moderní odborná encyklopedie všech oborů zahradnictví, tj. ovocnářství, zelinářství, květinářství, sadovnictví, školkařství, vinařství, pěstování léčivých a aromatických rostlin, kultivovaných hub, zpracování ovoce a zeleniny. Obsahuje i termíny z oborů tropického a subtropického zahradnictví.

V jednotlivých přehledných a srozumitelných heslech jsou shrnuty současné poznatky nejen z oblasti zahradnictví, ale i z oblastí vědních oborů, které jsou zdrojem pokroku v zahradnictví.

Ve slovníku jsou vysvětleny nejzávažnější pojmy užívané v botanice, fyziologii, genetice a šlechtění, biotechnologii a ochraně rostlin. Tím se slovník stává potřebnou pomůckou každému, kdo pracuje s odbornou nebo vědeckou literaturou. S velkou zodpovědností jsou ve slovníku uvedeny platné vědecké i české názvy rostlin, jejich botanické členění i autoři názvů, což umožňuje napravit časté nepřesnosti uváděné v naší odborné literatuře.

Předpokládaný rozsah slovníku je 5 dílů formátu A4 (každý rok vyjde jeden díl). První díl má 440 stran textu včetně pérovek a černobílých fotografií a 32 barevných tabulí.

Cena prvního dílu je 295 Kč (bez poštovného), druhého 345 Kč. Třetí díl se připravuje pro tisk.

Závazné objednávky zasílejte na adresu:

**Ústav zemědělských a potravinářských informací**

Encyklopedická kancelář

Slezská 7

120 56 Praha 2

## RECENZE

### Return to Resistance. Breeding Crops to Reduce Pesticide Dependence

R. A. Robinson

*AgAccess, Davis, California, 1996, 480 s. (ISBN 0-932857-17-5)*

Současná lidská společnost řeší celou řadu globálních problémů, které jsou především produktem rozsáhlé industrializace. Tato skutečnost se rovněž týká zemědělství, jež je stále více vázáno na využívání industriálních technologií včetně rozsáhlého boomu v oblasti jeho chemizace. Aplikace pesticidů se stala v zemědělství naprostou nezbytností, která však v mnoha aspektech přerostla do nekontrolovatelných a smysl postrádajících rozměrů. V posledním období stále více narůstá snaha biologicky orientovaných pracovníků po dosažení „bodu zvratu“ v této oblasti. Jedním ze zásadních vědeckých a odborných směrů reprezentujících toto snažení je šlechtění rostlin na rezistenci k chorobám a škůdcům.

Právě o této problematice pojednává velmi zasvěceně, ale přitom čtivou formou recenzovaná kniha. Autor, Dr. R. A. Robinson, je celosvětově známý odborník a publicista, který se již více než čtyři desetiletí zabývá teoretickými i praktickými aspekty šlechtění na rezistenci. Jeho nová kniha je dalším zásadním dílem v této oblasti. Publikace je rozdělena do tří částí: 1. Vysvětlení, 2. Příklady, 3. Řešení.

V první části, která reprezentuje asi jednu třetinu knihy, je podáno základní vysvětlení teoretických aspektů genetiky a šlechtění na rezistenci, a to jak ze strany populací hostitelských rostlin, tak i populací patogenů. Myšlenková sekvence této části vyúsťuje v konstatování neudržitelnosti současné „hyperchemizace“ zemědělství a v neodkladnost jejího řešení. Jednou z možností je šlechtění na horizontální rezistenci, kterému je věnován zbytek knihy.

Ve druhé části, jež je rozsahem zpracování nejkratší, je uvedena řada příkladů destruktivních chorob a možností jejich omezení pomocí horizontální rezistence. Tato problematika je demonstrována na příkladech brambor, kukuřice, kávovníku, cukrové třtiny a řady dalších plodin zejména subtropů a tropů (banánovník, citrusy, datlovník, réva vinná atd.).

Ve třetí části, která je nejrozsáhlejší, se pojednává o metodických přístupech řešení. Tato část je rozdělena do šesti podkapitol, z nichž za nejvýznamnější lze považovat koncepci tzv. klubů šlechtění rostlin, dále pak rozsáhlé a podrobné zpracování šlechtitelských metod a způsobů hodnocení rezistence. V závěru knihy je zdůvod-

něh význam šlechtitelských klubů orientovaných na horizontální rezistenci. Rovněž je zde zdůrazněn konflikt mezi šlechtěním na trvanlivou resp. horizontální rezistenci a možnostmi metod genových manipulací. Knihu uzavírá velmi dobře zpracovaný výkladový slovníček, index odborných výrazů a latinských jmen druhů rostlin.

Závěrem lze konstatovat, že Robinsonova kniha je mimořádně zajímavým čtením. Lze ji považovat za spíše populárně vědeckou než vědeckou publikaci. Srozumitelností výkladu poskytuje možnost i téměř naprostým laikům nahlédnout do tajů této složité problematiky. Kniha je určena všem, kteří se zajímají o geneticko-šlechtitelské aspekty řešení otázek rezistence kulturních rostlin. Věřím, že se tato kniha stane jedním z bestsellerů, tak jak tomu bylo v 60. a 70. letech u knih van der Planka, které však svým pojetím byly srozumitelné převážně vědecké veřejnosti.

*doc. Ing. Aleš Lebeda, DrSc.*

|   |     |
|---|-----|
| Athar M.: New record of plant parasitic nematode associated with <i>Hippophae rhamnoides</i> – Nový nález háďátka parazitujícího na rostlinách <i>Hippophae rhamnoides</i> . . . . .  | 263 |
| Bartoš P., Hanušová R., Stuchlíková E.: Fyziologická specializace rzi pšeničné [ <i>Puccinia persistens</i> Plow. var. <i>triticina</i> (Eriks.) Urban et Marková] v České republice v letech 1994–1995 – Physiologic specialization of wheat leaf rust [ <i>Puccinia persistens</i> Plow var. <i>triticina</i> (Eriks.) Urban et Marková] in the Czech Republic in 1994–1995 . . . . . | 187 |
| Bartoš P., Huszár J.: Virulence of Slovak wheat leaf rust population of 1995 on twenty near-isogenic lines with different <i>Lr</i> genes – Virulence populace rzi pšeničné na Slovensku v roce 1995 na dvaceti téměř izogenních liniích s různými <i>Lr</i> geny . . . . .   | 251 |
| Benada J., Váňová M.: Varietal sensitivity of cereal crops to seed protectants – Odrůdová citlivost obilnin na mořidla . . . . .  | 33  |
| Cagaň L.: Resistance of different maize genotypes to natural infestation by the European corn borer, <i>Ostrinia nubilalis</i> Hbn. – Odolnosť rôznych genotypov kukurice k prirodzenej infestácii vijačkou kukuričnou, <i>Ostrinia nubilalis</i> Hbn. . . . .  | 167 |
| Cagaň L., Tancik J.: Egg-laying of the European corn borer, <i>Ostrinia nubilalis</i> Hbn. – Kladenie vajíčok vijačkou kukuričnou, <i>Ostrinia nubilalis</i> Hbn. . . . .   | 277 |
| Dreiseitl A.: Výskyt chorob ječmene jarného v České republice v letech 1989–1995 – Disease occurrence on spring barley in the Czech Republic in 1989–1995 . . . . .   | 221 |
| Gallo J.: Druhové spektrum míneriek (Agromyzidae, Diptera) na jačmeni ozimnom a jarnom – Spectrum of species of leaf miners (Agromyzidae, Diptera) associated with winter barley and spring barley . . . . .  | 135 |
| Gallo J.: Výskyt míneriek (Agromyzidae) na jačmeni ozimnom v závislosti od niektorých prvkov agrotechniky – Occurrence of leaf miners (Agromyzidae) in winter barley in dependence on some factors of agrotechnics . . . . .  | 209 |
| Chod J., Jokeš M., Chodová D.: Distribution of celery mosaic virus in celery leaves, leaf rosette, bulbs and roots – Rozložení viru mozaiky celeru v listech, listové růžici, v bulvách a kořenech miřku celeru . . . . .   | 77  |

|  |     |
|--|-----|
| Jarošík V., Honěk A., Lapchin L., Rabasse J.-M.: An assessment of time varying rate of increase of the green peach aphid, <i>Myzus persicae</i> : its importance in IPM of commercial greenhouse peppers – Odhad kolísající rychlosti růstu mšice broskvoňové ( <i>Myzus persicae</i> ): význam pro integrovanou ochranu skleníkových paprik . . . . .   | 269 |
| Jarošík V., Honěk A., Rabasse J.-M., Lapchin L.: Life-history characteristics of the aphid parasitoid <i>Aphelinus abdominalis</i> reared on <i>Macrosiphum euphorbiae</i> – Plodnost a délka života parazitoida <i>Aphelinus abdominalis</i> při parazitaci mšice <i>Macrosiphum euphorbiae</i> . . . . .   | 83  |
| Kabiček J., Hejzlar P.: Predace <i>Orius majusculus</i> (Heteroptera: Anthocoridae) na mšici jabloňové <i>Aphis pomi</i> (Sternorrhyncha: Aphididae) na jabloni – Predation of <i>Orius majusculus</i> (Heteroptera: Anthocoridae) on the apple aphid <i>Aphis pomi</i> (Sternorrhyncha: Aphididae) on apple tree . . . . .  | 57  |
| Krátká J., Kyněrová B., Sýkorová S., Podaná M.: The diagnosis of <i>Phytophthora</i> sp. by polyclonal antibodies – observation of antibodies specificity – Diagnostika <i>Phytophthora</i> sp. pomocí polyklonálních protilátek – sledování specifčnosti protilátek . . . . .   | 241 |
| Kuldová J., Říčanová M., Hrdý I.: Efficacy of selected juvenoids on egg hatchability of the oriental fruit moth, <i>Cydia molesta</i> , and the grapevine moth, <i>Lobesia botrana</i> , in laboratory and field experiments – Účinnost vybraných juvenoidů na líhnutí vajíček obaleče východního, <i>Cydia molesta</i> a obaleče mramorovaného, <i>Lobesia botrana</i> v laboratorních a polních pokusech . . . . . | 19  |
| Polák J.: The correlation between leaf symptoms and concentration of plum pox virus in peach cultivars – Korelace mezi příznaky na listech a koncentrací viru šarky švestky u odrůd broskvoně . . . . .  | 1   |
| Polák J.: Distribution of hop mosaic virus in hop gardens of the Czech Republic – Rozšíření viru mozaiky chmelu ve chmelnicích České republiky . . . . .   | 9   |
| Polák Z.: Scarlet maple – a new host of cucumber mosaic virus – Javor červený – nový hostitel viru mozaiky okurky . . . . .  | 73  |
| Polák Z.: Spontaneous hosts of alfalfa mosaic virus ascertained in ruderal plant associations of Central Bohemia – Spontánní hostitelské rostliny viru mozaiky vojtěšky zjištěné v ruderálních společenstvech Středočeského kraje . . . . .  | 161 |
| Polák Z., Zieglerová J.: Apple mosaic virus associated with decline of silver birch – Výskyt viru mozaiky jabloně na chřadnoucí bříze bělokoré . . . . .   | 15  |
| Praslička J.: Occurrence of pests on <i>Amaranthus</i> spp. – Výskyt škodcov na láskavcích ( <i>Amaranthus</i> spp.) . . . . .   | 89  |

|   |     |
|---|-----|
| Praslička J.: Vplyv niektorých faktorov na napadnutie pšenice ozimnej vírusovou zakrpatenosťou pšenice (WDV) – Effect of some factors on the infection of winter wheat by wheat dwarf virus (WDV) . . . . .   | 181 |
| Starý P.: Life-cycle and further evidence of distribution of the russian wheat aphid, <i>Diuraphis noxia</i> (Mordv.), in the Czech Republic – Životní cyklus a údaje o dalším rozšíření mšice <i>Diuraphis noxia</i> (Mordv.) v České republice . . . . .  | 27  |
| Šindelářová M., Lojková M., Táborský V., Burketová L., Šindelář L.: Vliv extraktů z <i>Curcuma longa</i> L. na reprodukci viru mozaiky tabáku v listech a mezofylových protoplastech tabáku – The effect of extracts from <i>Curcuma longa</i> L. on reproduction of tobacco mosaic virus in leaves and mesophyll protoplasts of tobacco . . . . .  | 49  |
| Šindelářová M., Nezbedová L., Táborský V., Burketová L., Šindelář L.: Vliv extraktů ze <i>Zingiber officinale</i> Roscoe na reprodukci viru mozaiky tabáku v listech a mezofylových protoplastech <i>Nicotiana tabacum</i> L. – The effect of extracts from <i>Zingiber officinale</i> Roscoe on multiplication of tobacco mosaic virus in leaves and mesophyll protoplasts of <i>Nicotiana tabacum</i> L. . . . .  | 299 |
| Vančo B., Huszár J.: Reakcia odrôd a novošľachtencov pšenice k <i>Fusarium graminearum</i> a <i>Fusarium culmorum</i> – Susceptibility of Slovak and Czech Winter Wheat Genotypes to Fusarium Head Blight . . . . .   | 115 |
| Vavřač J., Michalíková A., Ondřej M.: Influence of a mixture of the beneficial strain <i>Pseudomonas fluorescens</i> and some strains of antagonistic fungi <i>Trichoderma</i> spp. in a suppression of <i>Rhizoctonia solani</i> damping-off disease of cucumbers under conditions of natural soils – Vplyv ošetrenia pôdy zmesmi antagonistických baktérií <i>Pseudomonas fluorescens</i> – kmeň CHAO a hyperparazitických húb <i>Trichoderma</i> spp. na supresiu huby <i>Rhizoctonia solani</i> v skleníkových podmienkach v patosystéme s uhorkami . . . . . | 287 |
| Voženílková B., Moudrý J., Raus A.: Výskyt černých zrn u nahého ovsa – Occurrence of black grains in naked oat . . . . .  | 125 |
| Zemánková M.: Výskyt hub rodu <i>Fusarium</i> v osevním postupu – Occurrence of species of <i>Fusarium</i> genus in crop rotation . . . . .   | 201 |
| Žďárková E.: The effect of mites on germination of seed – Vliv roztočů na klíčivost osiv . . . . .  | 175 |
| KRÁTKÁ SDĚLENÍ – SHORT COMMUNICATION  |     |
| Dreiseitl A.: Využití odrůdové odolnosti ječmene k udržování kolekce čistých patotypů padlí travního – Utilization of barley varietal resistance for maintaining a collection of pure powdery mildew pathotypes . . . . .   | 313 |

|  |     |
|--|-----|
| Stejskal V., Kučerová Z.: <i>Reesa vespulae</i> (Col., Dermestidae) a new pest in seed stores in the Czechoslovakia – <i>Reesa vespulae</i> (Col., Dermestidae) – nový škůdce ve skladech osiv v ČR . . . . .  | 97  |
| Věchet L.: Interakce rez pšeničná ( <i>Puccinia recondita</i> var. <i>tritici</i> ) – pšenice ozimá ve směsi odrůd – Leaf rust ( <i>Puccinia recondita</i> var. <i>tritici</i> ) – winter wheat interaction in varietal mixtures . . . . .                     | 145 |
| Věchet L.: Interakce rzi travní ( <i>Puccinia graminis</i> Pers. subsp. <i>graminis</i> ) a pšenice ozimé ve směsi odrůd – Interaction of steam rust ( <i>Puccinia graminis</i> Pers. subsp. <i>graminis</i> ) and winter wheat in varietal mixtures . . . . . | 307 |

#### AKTUALITY – NEWS

|  |     |
|--|-----|
| Rousek J., Holmanová J.: Spotřeba účinných látek pesticidů v České republice v letech 1993–1995 – Usage of active ingredients of pesticides in the Czech Republik in 1993–1995 . . . . . | 153 |
|--|-----|

#### PŘEHLEDY – REVIEWS

|  |     |
|--|-----|
| Šebesta J., Zwartz B., Harder D. E., Corazza L., Roderick H. W., Stojanovic S.: Incidence and resistance of oats to fungus diseases in Europe in 1988–1994 – Rezistence ovsa k houbovým chorobám v Evropě v letech 1988–1994 . . . . . | 103 |
|--|-----|

#### Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA

|   |     |
|---|-----|
| Polák J.: Pokrok ve výzkumu virů zeleniny . . . . .   | 65  |
| Polák J.: XIII. Mezinárodní kongres ochrany rostlin v Haagu v roce 1995 – rostlinná virologie . . . . . | 157 |
| Veverka K.: 11. mezinárodní symposium Moderní fungicidy a antifungální látky . . . . .                  | 70  |

#### ŽIVOTNÍ JUBILEA

|   |     |
|---|-----|
| Šedesátiny prof. Ing. Václava Kůdely, DrSc. . . . . | 231 |
|---|-----|

#### RECENZE

|  |     |
|--|-----|
| Čeleš M.: Kukuruzna Zlatica . . . . .  | 64  |
| Lebeda A.: Hock, B., Elstner, E. F. (Eds.) – Schadwirkungen auf Pflanzen. Lehrbuch der Pflanzentoxikologie . . . . . | 239 |
| Lebeda A.: R. A. Robinson – Return to Resistance. Breeding Crops to Reduce Pesticide Dependence . . . . .            | 318 |
| Paulech P.: Erysiphales (múčnatkotvaré) . . . . .  | 114 |

## LIRIOMYZA HUIDOBRENSIS BLANCHARD

**Synonyma:** *Agromyza huidobrensis* Blanchard; *Liriomyza cucumifoliae* Blanchard; *Liriomyza langei* Frick; *Liriomyza dianthi* Frick

### Vrtalka jihoamerická

**Národní názvy:** anglicky – Serpentine leaf miner, South American leaf miner, pea leaf miner



1. Dospělec vrtalky jihoamerické



2. Podkopy larev na listu rajčete

**Hlavní hostitelé:** polní plodiny – brambor, cukrovka, vojtěška; zeleniny – celer, cibule, fazol, hrách, lilek, okurka, paprika, pór, rajče, salát, špenát; okrasné rostliny – *Amaranthus*, *Aster*, *Chrysanthemum*, *Dahlia*, *Dianthus*, *Gypsophila*, *Lathyrus*, *Lisianthus*, *Primula*, *Verbena*, *Zinnia* a řada druhů plevelů.

V České republice jsou kromě plevelů napadány: *Lycopersicon*, *Capsicum*, *Chrysanthemum*, *Gerbera* a *Gypsophila*.

**Geografické rozšíření:** Z jihoamerického kontinentu se tato vrtalka rozšířila do Afriky, Středozeří a v roce 1987 do Evropy, kde se vyskytuje v Belgii, České republice, Francii, Itálii, Nizozemsku, Portugalsku, Rakousku, Německu, Španělsku a Velké Británii.

V České republice byl výskyt doposud zjištěn pouze ve sklenících; napadené jsou často zásilky řezaných květin z Nizozemska.

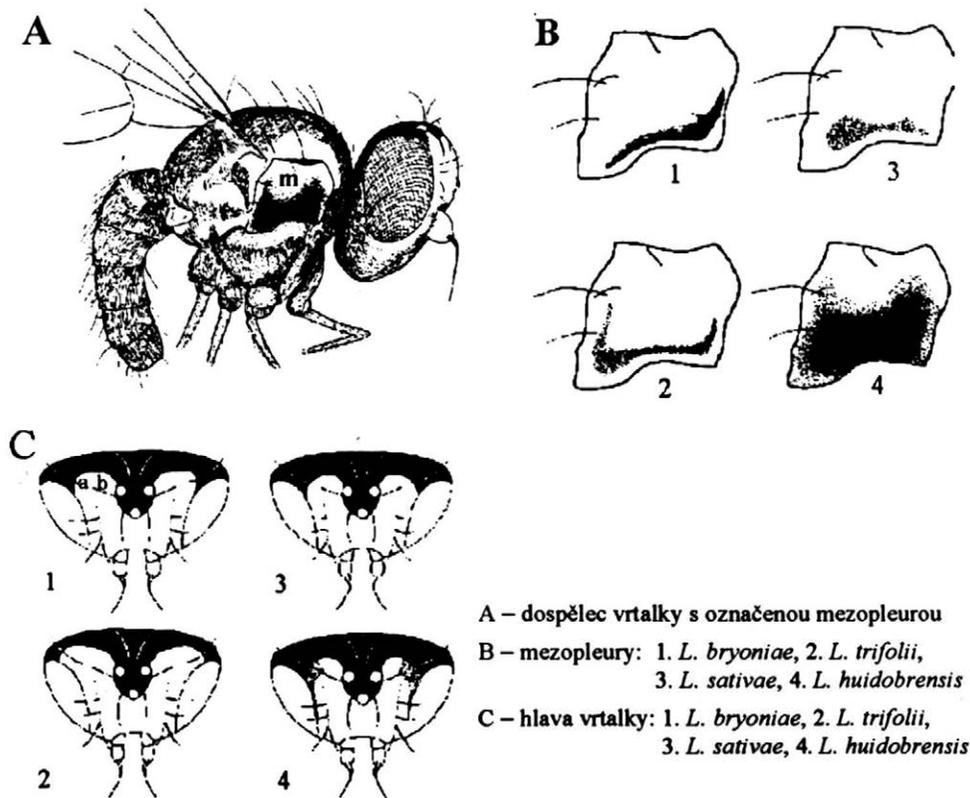
**Biologie:** Samice kladou až 400 vajíček do vpichů na listech hostitelů. Larva se líhne podle teploty prostředí a druhu hostitele za 2–5 dní, po 4–7 dnech žíru v listových a stonkových minách se kuklí na povrchu listu či v půdě. Z kukly se po 7–14 dnech líhne dospělá moucha, která žije asi 15 dní. Ve vytápěných sklenících má škůdce za rok více generací.

Dospělci se živí sáním rostlinných šťav. V našich zeměpisných šířkách může vrtalka jihoamerická ve stadiu pupária přežít za mírných zim i mimo skleníků.

**Hospodářský význam:** Škodlivost vrtalky jihoamerické se může projevit snížením výnosu až o 100 % (v důsledku žiru larev v minách a sání dospělců na rostlinách) a zhoršením kvality sklizených produktů (květy, plody), což vede i ke snížení tržní hodnoty.

**Způsob zavlékání:** Nejčastěji je zavlékána mezinárodním i vnitrostátním obchodem s rostlinným materiálem (zvláště na řízcích chryzantém a na řezaných rostlinách z rodu *Gypsophila*) a ze zamořených porostů. Aktivní šíření vrtalky ze zamořených skleníků bylo zjištěno do vzdálenosti několika set metrů.

**Determinace: Symptomy na rostlinách:** Na spodní straně listů, popř. na stoncích jsou bělavé, později hnědnoucí chodby podkopů (min) nepravidelného tvaru. Na hřbetní straně listů jsou okrouhlé až oválné bělavé vpichy dospělců průměru až 0,15 mm. **Diagnostika:** Vajíčka jsou bělavá velikosti 0,2 x 0,1 mm. Larva zpočátku průhledná, později žlutooranžová dorůstá délky až 3 mm. Oválné pupárium proměnlivé barvy je až 2,3 mm dlouhé. Tracheální vyústění larvy a pupária tvoří věneček s 6 až 9 hrbolky. Dospělci jsou žlutočerně zbarvení, délka těla je až 2,3 mm. Orientační rozlišení dospělců příbuzných druhů vrtalek z rodu *Liriomyza* je možné podle velikosti černé skvrny na mezopleure (m) a podle zbarvení políčka, z něhož vyrůstají vnitřní (b) a vnější (a) vertikální brvy. Přesné druhové rozlišení lze provést pouze na základě porovnání morfologie pohlavních orgánů samců, popř. pomocí elektroforézy.



A – dospělec vrtalky s označenou mezopleurou

B – mezopleury: 1. *L. bryoniae*, 2. *L. trifolii*,  
3. *L. sativae*, 4. *L. huidobrensis*

C – hlava vrtalky: 1. *L. bryoniae*, 2. *L. trifolii*,  
3. *L. sativae*, 4. *L. huidobrensis*

## BEMISIA TABACI GENNADIUS

**Synonyma:** *Bemisia gossyiperda* Misra a Lamba; *Bemisia longispina* Priesner a Hosny; *Bemisia negertiensis* Corbett

### Molice bavlníková

**Národní názvy:** anglicky – Cotton whitefly, sweet potato whitefly, tobacco whitefly; německy – Tabakmottenschildlaus; francouzsky – Aleurode du cotonnier, aleurode de la patate douce



1. Dospělec molice



2. Nymfy a pupária na listu

**Hlavní hostitelé:** bavlník, batáty, kasawa, rajče, tabák, *Euphorbia pulcherrima*, *Gerbera*, *Hibiscus*.

V České republice zjištěna nejčastěji na listech *Euphorbia pulcherrima* a *Hibiscus* spp.

**Geografické rozšíření:** Z původní domoviny, kterou je Středomoří, se tato molice rozšířila do tropických a subtropických zeměpisných šířek všech světadílů i do skleníků mírného pásma. Evropa a Středomoří: Belgie, Česká republika, Dánsko, Francie, Itálie, Izrael, Kypr, Libanon, Libye, Nizozemsko, Norsko, Malta, Maroko, Maďarsko, Polsko, Rakousko, Rusko, Řecko, Německo, Sýrie, Španělsko, Švédsko, Švýcarsko, Turecko, Tunisko, Ukrajina; Severní Amerika: Bermudy, Mexiko, jižní státy USA; Jižní Amerika: Argentina, Brazílie, Kolumbie, Venezuela; Asie, Afrika, Střední Amerika, Karibské ostrovy, Oceánie.

V České republice se molice bavlníková vyskytuje pouze ve sklenících, ve volné přírodě nepřežije zimu.

**Biologie:** Samice kladou podélně oválná vajíčka v kruzích asi po 40, vzácněji jednotlivě. Vajíčka jsou upevněna stopkou na spodní stranu listu. K líhnutí dochází po 5 až 9 dnech při teplotě 30 °C; vývoj jedné generace trvá při 26–35 °C asi 23 dní, kromě teploty závisí délka vývoje značně na vlhkosti vzduchu a hostitelské rostlině.

Vylíhlá nymfa je plochá, oválného tvaru, pohybuje se jen na krátkou vzdálenost od místa vylíhnutí do místa přísátí. V průběhu čtyř dalších nymfálních stupňů je nepohyblivá. Každé z prvních tří stupňů trvá 2–4 dny. Čtvrtý stupeň nymfy – pupárium – je asi 0,7 mm dlouhé a trvá asi 6 dní; je to stupeň, v němž dochází k přeměně v dospělého. Dospělec o velikosti do 1,2 mm se líhne trhlinou ve hřbetní části pokožky pupária. Délka života samice je asi 60 dní a samce od 9 do 17 dní. Samice vyklade za život přibližně 160 vajíček.

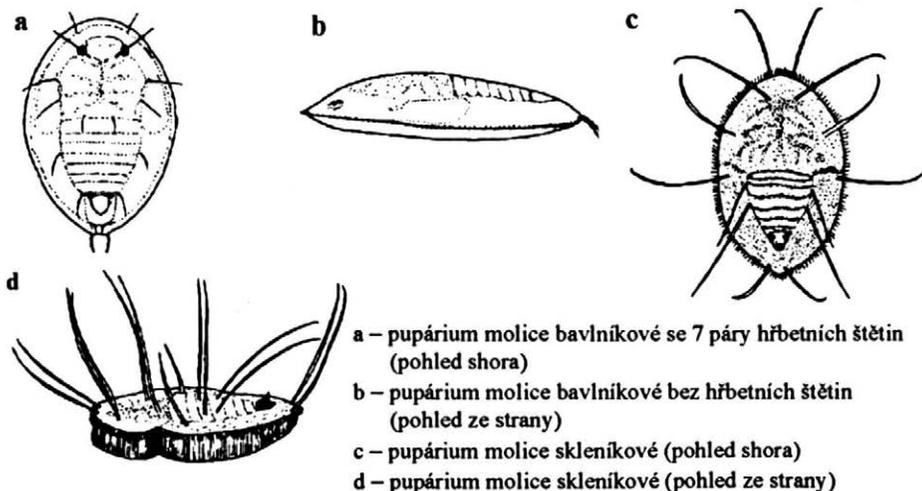
zhledem k rychlému vývoji škůdce a jeho značné odolnosti k mnoha insekticidním přípravkům je redukce jeho populace obtížná.

**Hospodářský význam:** Sání dospělců a nymf způsobuje žloutnutí, chřadnutí až následný úhyn napadených rostlin. Medovice po sání hostí černě, které omezují fotosyntézu. Molice bavlníková je rovněž přenašečem téměř 60 rostlinných virů.

**Způsob zavlékání:** Zdrojem zavlékání a šíření molice je pěstitelský materiál a řezané květy hostitelských rostlin. Pasivní šíření větrem je zanedbatelné.

**Determinace:** *Symptomy:* Na listech napadených rostlin se tvoří chlorotické skvrny, které později splývají a žloutnou, listy následně opadnou. Na spodní straně listů jsou bělavá až průhledná pupária a nymfy. Při zatřesení rostlinami vyletí trhavým letem bílí dospělci molice. *Diagnostika:* Pupárium molice bavlníkové je ploché, svírá s rovinou listu ostrý úhel, na hřbetě je až do 7 párů úzkých pravých štětín, které při výskytu na některých hostitelích zcela chybějí (např. *Hibiscus* spp. – b). Obvodové voskové štětiny chybějí kromě koncového páru (a). Pupárium molice skleníkové [*Trialeurodes vaporariorum* (Westhoff)] svírá s povrchem listu prakticky pravý úhel, má krabičkovitý tvar, na hřbetě je až 8 párů velmi dlouhých, kolmo postavených voskových štětín, které lze preparační jehlou oddělit od těla pupária (c, d).

Při troše zkušenosti lze druhově rozlišovat i podle dospělců. Dospělec molice bavlníkové má obvykle jasně žluté tělo, užší a slaběji bělavě poprášená křídla, která v klidu střechovitě skládá na tělo. Při pohledu shora má štihlejší vzhled než molice skleníková..



## Instructions for authors

**Manuscripts** in duplicate should be addressed to: RNDr. Marcela Braunová, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, Czech Republic.

Manuscript should be typed with a wide margin, double spaced on standard A4 paper. Articles on **floppy disks** are particularly welcome. Please indicate the editor programme used.

### Text

Full research manuscript should consist of the following sections: Title page, Abstract, Keywords, a short review of literature (without "Introduction" subtitle), Materials and Methods, Results, Discussion, References, Tables, Legends to figures. A title page must contain the title, the complete name(s) of the author(s), the name and address of the institution where the work was done, and the telephone and fax (e-mail) numbers of the corresponding author. The Abstract shall not exceed 120 words. It shall be written in full sentences and should comprise base numerical data including statistical data. As a rule, it should not give an exhaustive review of literature. In the chapter Materials and Methods, the description of experimental procedures should be sufficient to allow replication of trials. Organisms must be identified by scientific name. Abbreviations should be used if necessary. Full description of abbreviation should follow the first use of an abbreviation. The International System of Units (SI) and their abbreviations should be used. Results should be presented with clarity and precision. Discussion should interpret the results. It is possible to combine Results and Discussion in one section. References in the text to citations comprise the author's name and year of publication. If there are more than two authors, only the first one should be named in the text, followed by the phrase "et al.". References should include only publications quoted in the text. They should be listed in alphabetical order under the first author's name, citing all authors, full title of an article, abbreviation of the periodical, volume number, year, first and last page numbers.

### Tables and Figures

Tables, figures and photos shall be enclosed separately. The text must contain references to all these annexes. Figures should be referred solely to the material essential for documentation and for the understanding of the text. Duplicated documentation of data in figures and tables is not acceptable. All illustrative material must be of publishing quality. Figures cannot be redrawn by the publisher. All figures should be numbered. Photographs should exhibit high contrast. Both line drawings and photographs are referred to as figures. Each figure should contain a concise, descriptive legend.

**Offprints:** Forty offprints of each paper are supplied free of charge to the author.

Authors have full responsibility for the contents of their papers. The board of editors of this journal will decide on paper publication, with respect to expert opinions, scientific importance, contribution and quality of the paper.

## Obsah

- Krátká J., Kyněrová B., Sýkorová S., Podaná M.: The diagnosis of *Phytophthora* sp. by polyclonal antibodies – observation of antibodies specificity – Diagnostika *Phytophthora* sp. pomocí polyklonálních protilátek – sledování specifčnosti protilátek ..... 24
- Bartoš P., Huszár J.: Virulence of Slovak wheat leaf rust population of 1995 on twenty near-isogenic lines with different *Lr* genes – Virulence populace rzi pšeničné na Slovensku v roce 1995 na dvaceti téměř izogenních liniích s různými *Lr* geny ..... 25
- Athar M.: New record of plant parasitic nematode associated with *Hippophae rhamnoides* – Nový nález háďátka parazitujícího na rostlinách *Hippophae rhamnoides* ..... 26
- Cagaň L., Tancik J.: Egg-laying of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hbn. – Kladenie vajíčok vijačkou kukuričnou, *Ostrinia nubilalis* Hbn. .... 27
- Jarošík V., Honěk A., Lapchin L., Rabasse J.-M.: An assessment of time varying rate of increase of the green peach aphid, *Myzus persicae*: its importance in IPM of commercial greenhouse peppers – Odhad kolísající rychlosti růstu mšice broskvoňové (*Myzus persicae*): význam pro integrovanou ochranu skleníkových paprik ..... 26
- Vavrač J., Michalíková A., Ondřej M.: Influence of a mixture of the beneficial strain *Pseudomonas fluorescens* and some strains of antagonistic fungi *Trichoderma* spp. in a suppression of *Rhizoctonia solani* damping-off disease of cucumbers under conditions of natural soils – Vplyv ošetrenia pôdy zmesmi antagonistických baktérií *Pseudomonas fluorescens* – kmen CHAO a hyperparazitických húb *Trichoderma* spp. na supresiu huby *Thizoctonia solani* v skleníkových podmienkach v patosystéme s uhorkami ..... 28
- Šindelářová M., Nezbedová L., Táborský V., Burketová L., Šindelář L.: Vliv extraktů ze *Zingiber officinale* Roscoe na reprodukci viru mozaiky tabáku v listech a mezofylových protoplastech *Nicotiana tabacum* L. – The effect of extracts from *Zingiber officinale* Roscoe on multiplication of tobacco mosaic virus in leaves and mesophyll protoplasts of *Nicotiana tabacum* L. .... 29

## KRÁTKÁ SDĚLENÍ

- Věchet L.: Interakce rzi travní (*Puccinia graminis* Pers. subsp. *graminis*) a pšenice ozimé ve směsi odrůd – Steam rust (*Puccinia graminis* Pers. subsp. *graminis*) and winter wheat interaction in varietal mixtures ..... 30
- Dreiseitl A.: Využití odrůdové odolnosti ječmene k udržování kolekce čistých patotypů padlí travního – Utilization of barley varietal resistance for maintaining a collection of pure powdery mildew pathotypes. .... 31

## RECENZE

- Lebeda A.: R. A. Robinson – Return to resistance. Breeding crops to reduce pesticide dependence ..... 319

---

Vědecký časopis OCHRANA ROSTLIN ♦ Vydává Česká akademie zemědělských věd – Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha ♦ Redakce: Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/251 098, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: braum@uzpi.agrec.cz ♦ Sazba a tisk: ÚZPI Praha ♦ © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1996

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