

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH
INFORMACÍ

OCHRANA ROSTLIN

PLANT PROTECTION

1

ROČNÍK 33 (LXX)
PRAHA 1997
CS 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

prof. 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 Tábořský, CSc., Ing. Marie Váňová, CSc.

Foreign Members of the Editorial Board – Zahraniční členové redakční rady

Dr. I. R. Crute (Great Britain), Assoc. Dr. R. S. S. Fraser PhD DSc FIHort (Great Britain), Prof. Dr. K. Hurlle (Germany), doc. Ing. J. Huszár, DrSc. (Slovak Republic), Dr. J. Nielsen (Canada), Prof. A. Novacky PhD (USA),
Ing. T. Roháčik, CSc. (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 1997 is 204 Kč, 51 USD (Europe) and 53 USD (overseas)

Periodicity: The journal is published four times a year.

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

tel.: 42 2 25 10 98; fax: 42 2 24 25 39 38; e-mail: braun@uzpi.agrec.cz

© Institute of Agricultural and Food Information, Prague 1997 MK ČR 6695

MOLECULAR DETECTION OF PLUM POX VIRUS*

Martina BITTÓOVÁ, Milan HROUDA¹, Petr KOMÍNEK

Research Institute of Crop Production – Division of Plant Medicine, Prague;

¹*Institute of Experimental Botany, Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic*

Abstract: Nucleic acid amplification systems are powerful technologies with a potentially wide range of diagnostic applications. In this study we explored the sensitivity of modified polymerase chain reaction (RT-PCR) to detect plum pox potyvirus (PPV) in *Nicotiana* and *Prunus* plants. Reverse transcription of viral RNA followed by the PCR reaction resulted in a product covering the 262-base-pairs region of coat protein gene. As little as 100 fg of purified viral RNA, corresponding to approximately 2×10^4 viral particles, could be detected. The RT-PCR assay of plant extracts proved to be about ten times more sensitive than the ELISA test.

plum pox virus; RT-PCR; ELISA

The control of plum pox (Sharka) disease requires detection techniques of high sensitivity. The causal agent of this disease, plum pox potyvirus (PPV), is unevenly distributed and sometimes present at very low concentrations in infected trees. Several methods based on serological detection (Kerlan, Dunez, 1979; Varveri et al., 1988), molecular hybridization with radioactively labelled RNA probes (Varveri et al., 1988, Wetzel et al., 1990) and PCR (Wetzel et al., 1991) have been adapted for field indexing trials of PPV. Reverse transcription – polymerase chain reaction (RT-PCR) has been shown to be optimal because of its simplicity and sensitivity.

RT-PCR is a method based on PCR, in which viral RNA is first reverse transcribed to DNA and then amplified. The whole procedure is relatively easy and rapid. It permits PPV RNA chemical denaturation, reverse transcription and amplification to proceed in a single tube, each step requiring just the addition of reagents. It can be performed directly from crude plant extracts without the need of preliminary viral RNA purification.

* This work has been supported by the grant no 513/95/0969 of the Grant Agency of the Czech Republic.

In this study we compared the sensitivity of RT-PCR and ELISA with our PPV isolate and infected plant extracts.

MATERIAL AND METHODS

PPV strain and plant material

We used a PPV isolate of the Ranković strain from IPO-DLO Wageningen (Lain et al., 1988). PPV virus was multiplied in *Nicotiana occidentalis* and the hybrid *Nicotiana clelandii* x *N. glutinosa*. Flowers and leaves of naturally infected plants of *Prunus cerasifera* and *Prunus domestica* were used in RT-PCR and ELISA detection tests.

PPV RNA purification

PPV RNA was isolated by the viral particles purification method developed at our institute (Albrechtová et al., 1986), followed by phenol-chloroform extraction (Sambrook et al., 1988).

Crude extract preparation

One gram of infected leaves or flowers were homogenized in PBS-Tween buffer supplemented with 2% polyvinylpyrrolidon K25 and 20mM sodium diethylthiocarbamate followed by 10 min centrifugation (13 000 rpm, 4 °C). The supernatant was diluted ten times with distilled water and virus particles were disrupted by adding Triton X-100 to a concentration of 1%. After 10 min of incubation the mixture was vortexed and supplemented with methylmercury hydroxide to a final concentration of 10 mM. Incubation of the mixture at room temperature for 10 min lead to denaturation of template RNA. The methylmercury hydroxide was neutralized by adding 20mM 2-mercaptoethanol and a further incubation for 10 min. 10 µl of this mixture was used in RT-PCR reaction.

Primers

For PCR, two oligonucleotide sequences that are specific for PPV and not present in other potyviruses, were selected from a highly homologous region of coat protein gene. The selection was made on basis of a comparison of four published PPV sequences (Ravelonandro et al., 1988; Lain et al., 1988; Maiss et al., 1989; Teycheney et al., 1989). The region was

262 bp long, coding for 87 amino acids, started at nucleotide position 8 829 according to Mais s et al. (1989):

reverse primer: 5'- GGAATTCCTCTATGCACCAAACCATAAGACC - 3'

amplification primer: 5'- CCGGATCCCGGAACCTTTACAGTGCCACGTTTG- 3'

5' ends of primers were flanked by six bases corresponding to target sites for Eco RI and Bam HI. These were used for cloning of the amplified fragment into pBS vector.

RT-PCR assay

We used the amplification protocol according to Wetzel et al. (1991), with slight modifications.

Reverse transcription (RT) mixture containing 50mM Tris-HCl (pH = 8.3 at 42 °C), 50mM KCl, 7.5mM MgCl₂, 0.1 μM reverse primer, 20 μM dNTPs, 0.5 U AMV RT (Amersham) and 10 μl of template (viral RNA or plant extract) was prepared in a final volume of 20 μl. The reaction was incubated at 42 °C for 45 min and terminated by 4 min incubation at 99 °C.

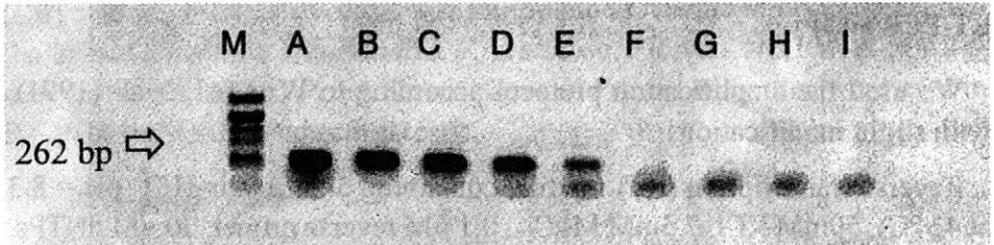
As a second step, the amplification reaction was initiated by mixing of 40 μl of PCR mixture – 10mM TRIS-HCl (pH = 8.3), 50mM KCl, 1,5mM MgCl₂, 0,1% BSA, 20 μM dNTPs, 1,0 μM of each primer – with 10 μl of RT mixture and 2 U of Taq polymerase (Promega). PCR reactions were run under the following conditions: template denaturation at 94 °C (1 min), primer annealing at 62 °C (1 min), DNA synthesis at 72 °C (1.5 min), 40 cycles. Amplification products were analysed by electrophoresis of 10 μl aliquots on 1,2% agarose gel.

Immunoenzymatic assay

Viral detection was performed using double antibody sandwich-ELISA method (Albrechtová, 1986) using IgG and alkaline phosphatase konjugate prepared in Research Institute of Crop Production in Prague according to Albrechtová et al. (1986). Samples were prepared by grinding of 0.2 g of leaf tissue in 4 ml of phosphate buffered saline (PBS) pH = 7.4 with 2% PVP and 0.2% of egg albumin. Absorbance values were measured by photometer MR 5000 (Dynatech) at 405 nm. The absorbance value of the positive samples was 0.1 or more.

RESULTS AND DISCUSSION

We used purified PPV RNA to determine the sensitivity of the assay. The lowest amount of viral RNA detected after amplification was 100 fg (Fig. 1) which corresponds to 2×10^4 target copies per assay. Compared to published data, this level of detection was 500 times more sensitive than the ELISA test (Varveri et al., 1988).

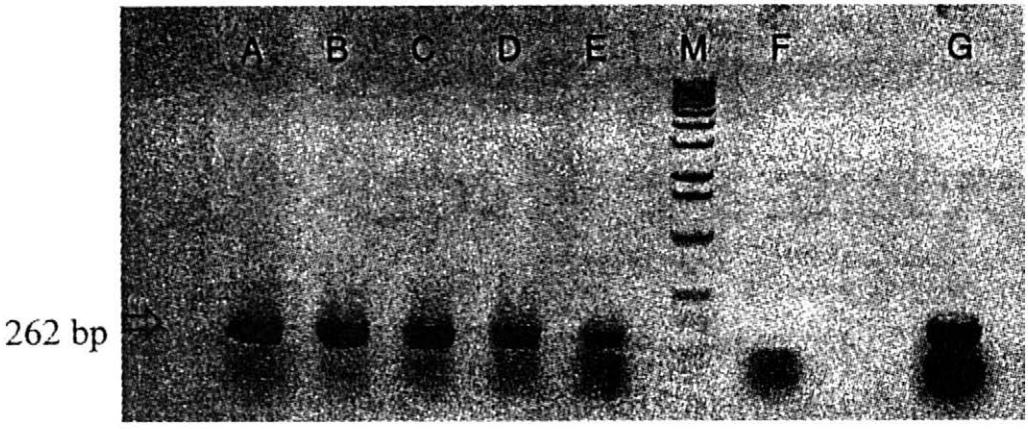


1. 1.2% agarose gel, amplified fragment after RT-PCR. Lane M = DNA length standard, phase I, restricted by Alu I, A = purified PPV 1 ng, B = 100 pg, C = 10 pg, D = 1 pg, E = 0.1 pg, F = 10 fg, H = 100 ag, I = mix without RNA

To test whether RT-PCR could be used in routine detection of PPV, a comparative detection assay using both RT-PCR and ELISA was performed. The samples were collected from plants artificially inoculated and grown in greenhouse conditions. Extracts from infected leaves with visible symptoms of viral infection were diluted and tested in parallel by PCR and ELISA tests. The RT-PCR assay could prove the presence of viral RNAs in extracts diluted up to 1 : 10 000. The threshold of detection by ELISA test was at least 10 times higher (Table I, Fig. 2).

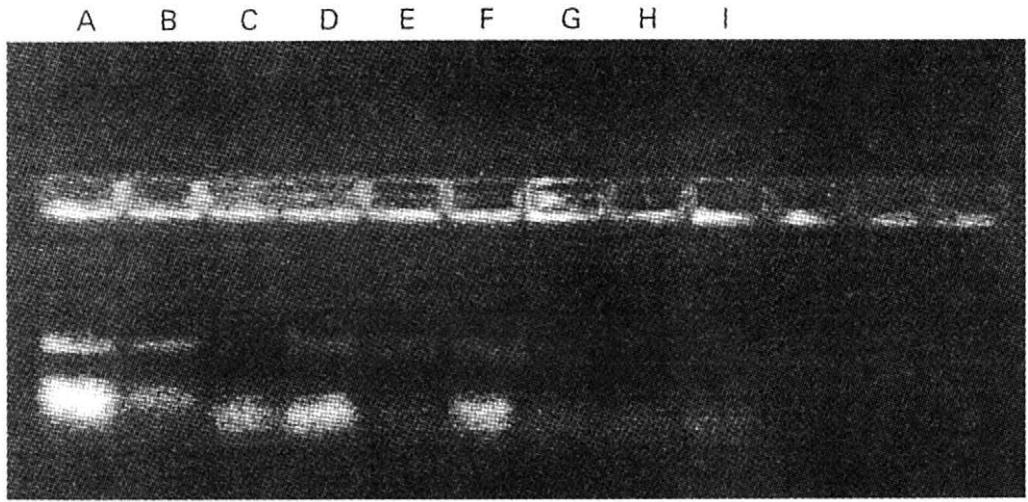
I. Comparison of sensitivity of PPV detection by ELISA and RT-PCR

Plant	Absorbance	ELISA	RT-PCRv
<i>N. cleveandii x glutinosa</i> – non infected	0,014	–	–
<i>N. clevelanddi x glutinosa</i> – PPV infected			
Dilution 1 : 20	1.026	+	+
1 : 100	0.824	+	+
1 : 1 000	0.555	+	+
1 : 10 000	0.018	–	+



2. 1.2% agarose gel, amplified fragment after RT-PCR. Lanes A-E: extract from infected plant *Nicotiana clevelandii* x *N. glutinosa*, dilutions (w/v): A = 1 : 2, B = 1 : 100, C = 1 : 1 000, E = 1 : 10 000, M = extract from healthy plant *Nicotiana clevelandii* x *N. glutinosa*, G = pBS : PPV

Flower and leaf extracts from naturally infected plants of *Prunus cerasifera* and *Prunus domestica* were also tested in parallel by both RT-PCR and ELISA. The ELISA test proved the presence of viral particles in flowers and



3. 1.2% agarose gel, amplified fragment after RT-PCR. Lane: *Prunus domestica* - leaves (A); flowers (B); *Prunus cerasifera* - plant 1, leaves (C); plant 1, flowers (D); plant 2, leaves (E); plant 2, flowers (F); control, PCR without template (G, H, I)

aves of *P. domestica*, but only in flowers of *P. cerasifera*. The more sensitive method of RT-PCR, however, indicated PPV infection even in leaves of *P. cerasifera* (Table II, Fig. 3).

II. Detection of PPV in naturally infected plants *Prunus*

Plant	Plant tissue	Absorbance	ELISA	RT-PCR
<i>P. cerasifera</i> No. 1	flowers	0.605	+	+
<i>P. cerasifera</i> No. 1	leaves	0.018	-	+
<i>P. cerasifera</i> No. 2	leaves	0.020	-	-
<i>P. cerasifera</i> No. 2	flowers	0.138	+	+
<i>P. domestica</i>	leaves	0.525	+	+
<i>P. domestica</i>	flowers	0.602	+	+
<i>N. clevelandii</i> x <i>glutinosa</i>	leaves	0.020	-	-
<i>N. clevelandii</i> x <i>glutinosa</i> - PPV infected	leaves	1.851	+	+

Conclusions

The technique of RT-PCR has been optimized and successfully used to detect plum pox potyvirus in infected plants. Using our extracts this method was at least ten times more sensitive than ELISA.

References

- ALBRECHTOVÁ, L. (1986): Untersuchungen über die Verteilung des Scharka-Virus (plum pox virus) im Gewebe von *Prunus domestica*. Z. Pfl.-Krankh. Pfl.-Schutz, 93: 190-201.
- ALBRECHTOVÁ, L., HOLUBCOVÁ, L., JOKEŠ, M. (1986): Purifikace viru šarky švestky a příprava antisera vhodného pro stanovení viru metodou ELISA. Ochr. Rostl., 22: 161-168.
- KERLAN, C., DUNEZ, J. (1979): Differentiation biologique et serologique de souches du virus de la Sharka. Ann. Phytopathol., 11: 241-250.
- LAIN, S., RIECHMANN, J. L., GARCIA, J. A. (1989): The complete nucleotide sequence of plum pox potyvirus RNA. Virus Res., 13: 157-172.
- MAISS, E., TIMPE, U., BRISSE, A., JELKMANN, W., CASPER, R., HIMMLER, G., MATTANOVICH, D., KATINGER, H.W. D. (1989): The complete nucleotide sequence of plum pox virus RNA. J. General Virol., 70: 513-524.

RAVELONANDRO, M., VARVERI, C., DELBOS, R., DUNEZ, J. (1988): Nucleotide sequence of the capsid protein gene of plum pox potyvirus. *J. General Virol.*, 69: 1509–1516.

SAMBROOK, J., FRITSCH, E. F., MANIATIS, T. (1989): *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2nd ed. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor.

TEYCHENEY, P. Y., TAVERT, G., DELBOS, R. P., RAVELONANDRO, M., DUNEZ, J. (1989): The complete nucleotide sequence of plum pox virus RNA. *Nucl. Acid Res.*, 17: 10 115–10 116.

VARVERI, C., CANDRESSE, T., CUGUSI, M., RAVELONANDRO, M., DUNEZ, J. (1988): Use of 32P-labelled transcribed RNA probe for dot hybridization detection of plum pox virus. *Phytopathology*, 78: 1280–1283.

WETZEL, T., TAVERT, G., TEYCHENEY, P. Y., RAVELONANDRO, M., CANDRESSE, T., DUNEZ, J. (1990): Dot hybridization detection of plum pox virus using 32P-labelled RNA probes representing nonstructural viral protein genes. *J. Virol. Methods*, 30: 161–172.

WETZEL, T., CANDRESSE, T., RAVELONANDRO, M., DUNEZ, J. (1991): A polymerase chain reaction assay adapted to plum pox potyvirus detection. *J. Virol. Methods*, 33: 355–365.

Received October 25, 1996

Detekce viru šarky švestky molekulárními technikami

Amplifikační systémy nukleových kyselin nacházejí široké uplatnění v mnoha diagnostických metodách. V této práci jsme posuzovali možnost využití modifikované polymerázové řetězové reakce (RT-PCR) pro detekci viru šarky švestky v rostlinách rodu *Nicotiana* a *Prunus*. Reverzní transkripce virové RNA do DNA a následnou amplifikační metodou PCR byly z oblasti genu pro plášťový protein získány fragmenty DNA o velikosti 262 párů bází. Pomocí RT-PCR bylo detekováno 100 fg purifikované virové RNA, které odpovídá množství 2×10^4 virových částic. Při testování rostlinných extraktů z infikovaných rostlin se tato metoda ukázala o jeden řád citlivější než metoda ELISA.

virus šarky švestky; RT-PCR; ELISA

Contact address:

Ing. Petr K o m í n e k, Výzkumný ústav rostlinné výroby, odbor rostlinolékařství
Praha 6-Ruzyně, Česká republika
tel.: 00 420 2 360 851, fax: 00 420 2 365 228

INSTITUTE OF AGRICULTURAL AND FOOD INFORMATION
Slezská 7, 120 56 Praha 2, Czech Republic
Fax: 00 420 2 242 539 38

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,-

CHLOROPHYLL CONTENT AND LEAF DAMAGE BY *Oulema* LARVAE IN WINTER WHEAT*

Alois HONĚK, Ivo NOVÁK

Research Institute of Crop Production – Division of Plant Medicine,
Prague, Czech Republic

Abstract: We investigated the relationship between chlorophyll content, leaf size, and specific area of the flag leaves and proportion of leaf area eaten by larvae of cereal leaf beetles [*Oulema* spp., largely *O. melanopus* (L.)]. The test was performed in a winter wheat stand of the cv. Zdar (at 28 sites) and a stand of cv. Hana (30 sites). Plant quality as well as proportion of leaf area eaten by *Oulema* larvae varied between sites. The leaf damage was correlated positively with leaf chlorophyll content (partial $r = 0.519$ and 0.142 in cv. Zdar and Hana, resp.), but was not significantly affected by leaf size and specific leaf area. Multiple correlation with three investigated plant qualities explained a significant proportion of the variance in average leaf damage in cv. Zdar ($r^2 = 0.330$, $p < 0.05$) which was less damaged by *Oulema* larvae (average 2.6% of the flag leaf area eaten), but was not significant in the more damaged stand of cv. Hana (7.6% leaf area eaten). Since leaf chlorophyll content is correlated with plant vigour, it appears to be a convenient predictor of damage by *Oulema* larvae.

flag leaf; chlorophyll; leaf size; specific leaf area; plant vigour; cereal leaf beetle; abundance

The cereal leaf beetles (CLB) are intensively studied in North America where this introduced pest causes considerable damage of cereal stands (Haynes, Gage, 1981). In the Palearctic, the area of origin of CLB, the importance of both CLB species, *Oulema melanopus* L. and *O. lichenis* (Voet), also increased. The main factors for this may be changes in the spectra of wheat and barley cultivars, and climatic variation. Earlier works (e.g. Chambon, VanLaere, 1983; Freier, Wetzel, 1984) contributed to explaining and predicting annual and between stand variation in CLB density and damage. Our research (Honěk, 1991a) indicated the importance of

* The work was partly funded from grant no. 513/93/0377 of the Grant Agency of the Czech Republic.

within crop variation on CLB population density. Adults immigrating into wheat fields in spring prefer dense stands consisting of vigorous plants which provide optimal conditions for the offspring.

Plant quality has also an important effect on the distribution of other cereal pests. Populations of cereal aphids increased in abundance in stands which allocated a relatively large proportion of energy to organs on which the aphids live, i.e. leaves [*Metopolophium dirhodum* (Walker)] or ears [*Sitobion avenae* (F.)] (Hoňk, 1991b, c, 1994). Chlorophyll content was found to be a good indicator of aphid abundance on leaves (Hoňk, in prep.). While investigating the aphid distribution in cereal stands, we also recognized the relationship between plant quality, chlorophyll content and damage to leaves by CLB larvae. This relationship was investigated in this study.

MATERIAL AND METHODS

The investigation was made in 1996 in two winter wheat stands of cv. Zdar and cv. Hana grown at Prague-Ruzyně (50°06' N, 14°15' E). Both stands were infested by larval populations of CLB, where *O. melanopus* (85% of the spring immigrant adult CLB population) prevailed over *O. lichenis*. The damage to flag leaves was produced chiefly by larvae, after most adults had died. This damage was recorded on July 10 and 12, when most *Oulema* larvae had already completed their development and the extent of damage was thus maximum. However, the leaves were still not completely senescent and differences in leaf quality could be detected. The observations were taken at 28 (in cv. Zdar) and 30 (in cv. Hana) sites randomly distributed throughout the two fields. The quality of wheat plants varied between the sites due to differences in soil quality, mineral nutrition and crop density. At each site a sample of 50 flag leaves was collected into a plastic bag and preserved at 5 °C and darkness until the next day when leaf damage and quality were ascertained. A parallel experiment showed that leaf chlorophyll content did not change during 48 h of storage at the above conditions. The damage to leaves (area eaten by the larvae) was determined by visually classifying each leaf according to a six-degree scale which corresponded to 0, 2, 5, 10, 25 and 40% of leaf area eaten. The average damage (percentage of leaf area eaten)

of a sample was calculated as the arithmetic mean of damages on individual leaves. Three parameters of leaf quality were measured for each sample:

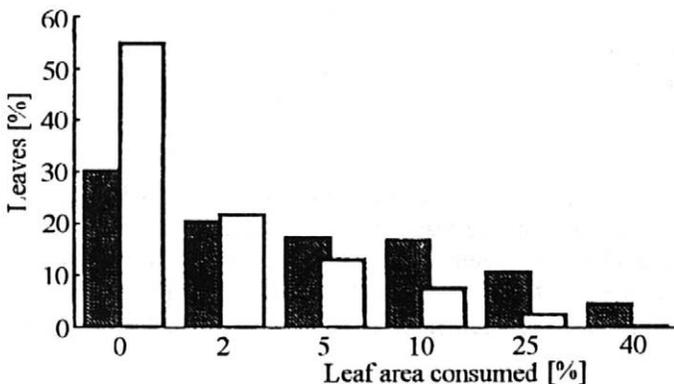
(1) Chlorophyll content was measured optically, by Chlorophyll Meter SPAD-502 (Minolta) on 15 leaves of each sample (two measurements on each leaf). The values measured by this device correspond to the amount of chlorophyll present in the leaf. The calculation of these values is based on the amount of light transmitted by the leaf in two wavelength regions at which the absorbance of chlorophyll is different from carotenoids and other leaf components (peak wavelengths approx. 650 and 940 nm). The results are indicated in SPAD units which are well correlated with the content of chlorophyll in the leaves.

(2) Leaf area was measured by an optical planimeter (Portable Area-Meter, Li-Cor).

(3) Specific leaf area, a ratio between leaf area and leaf dry weight (Hunt, 1990), was determined on undamaged leaf segments remaining after removal of *Oulema* grazed parts. Their area was measured, they were dried at 90 °C, and weighed with 0.0001 g accuracy. Statistic calculations were performed with STATISTICA 2.0 (StatSoft, 1994).

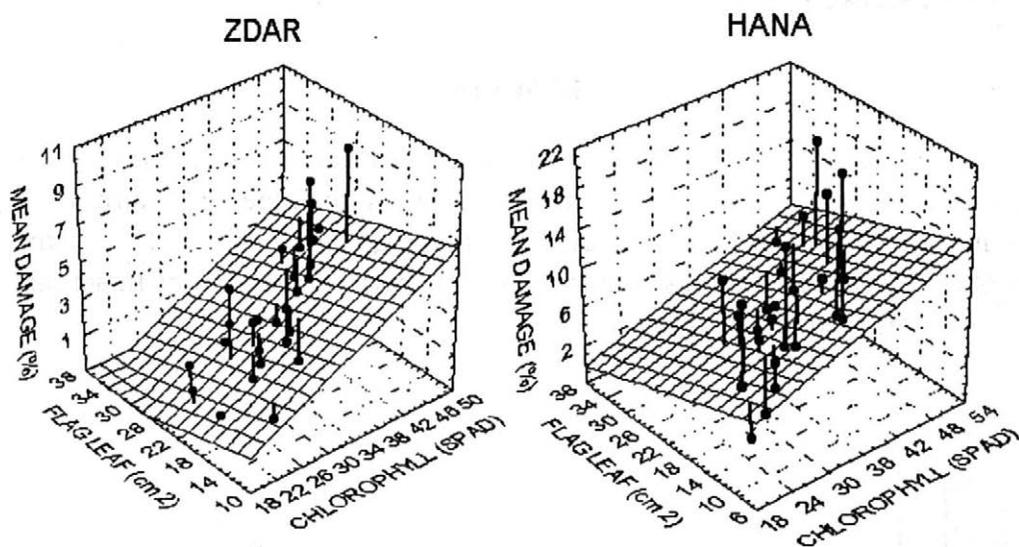
RESULTS

The intensity of CLB grazing differed in both stands. The average grazing damage was greater in the stand of cv. Hana (average 7.6%, min. 1.2% – max. 19.0%) than in that of cv. Zdar (average 2.6%, min. 0.4% – max. 9.6%). The difference was caused by variation in frequencies of intact and highly damaged leaves (Fig. 1).



1. The proportion of leaves with different degree of damage in a total of leaves of the less damaged stand of cv. Zdar (open bars) and of the more damaged stand of cv. Hana (shaded bars)

The trends of covariance between crop quality and CLB damage were similar in both stands. Chlorophyll content in the leaf was the best predictor of the amount of CLB damage. In both stands CLB damage (Fig. 2) increased with chlorophyll content. In the stand of cv. Zdar the partial correlation coefficient $r = 0.519$ ($p < 0.01$), while in cv. Hana partial $r = 0.142$ (N.S.). The damage always decreased with increasing flag leaf size, but the relationship was below the level of statistic significance (partial $r = -0.189$ in cv. Zdar, and -0.111 in cv. Hana). The specific leaf area also did not explain a significant proportion of the variation in damage (partial $r = -0.201$ in cv. Zdar, and 0.092 in cv. Hana). Rather, the combined effects of chlorophyll content, leaf size and specific leaf area explained the significantly higher CLB damage to individual leaves in the stand of the overall less damaged cv. Zdar ($R^2 = 0.330$, $p < 0.05$), than to leaves in the more damaged cv. Hana ($R^2 = 0.061$, N.S.).



2. Mean damage to leaves (average percent of leaf area eaten) in relation to mean leaf chlorophyll content (SPAD units) and mean area of flag leaves (cm^2) in 28 samples of the cv. Zdar stand (regression slopes = 0.36 for chlorophyll content and -0.25 for leaf area) and 30 samples of cv. Hana stand (regression slopes = 0.26 for chlorophyll content and -0.19 for leaf area). The tickmark lines indicate the difference between observed values (points) and values predicted by regression plane (grid surface)

DISCUSSION

Among the three qualities of the leaves investigated, chlorophyll content appeared the best predictor of the extent of CLB damage. These results parallel those obtained for cereal aphids (Hoňek, in prep.). In several winter wheat stands, the numbers of *M. dirhodum* on leaves increased with leaf chlorophyll content. This trend was manifested on individual plants where chlorophyll content decreased from the flag leaves downwards. The differences also appeared between sites where plant quality varied from very poor to vigorous. Chlorophyll content was correlated with several characteristics of plant quality, e.g. tiller weight, ear weight, and total leaf area per tiller, and was probably the best correlate of plant vigour. Vigorous plants are preferred or support greater populations of many insect species (Service, 1984; Price, 1991; Breton, Addicott, 1992; Preszler, Price, 1995), although some species may prefer stressed plants (Mattson, Haack, 1987).

The results partly reflect CLB preferences during immigration and oviposition. The adults aggregate on vigorous plants and lay more eggs per tiller in stands consisting of such plants (Hoňek, 1991a). The damage was consequently greater in stands of vigorous plants where CLB larvae aggregated on flag leaves after leaving lower leaves. The relationship was significant in the stand with a lower average of CLB damage (cv. Zdar), but the trend for increased damage with higher chlorophyll content was identical in the more damaged stand (cv. Hana). The cause of the lack of a significant correlation in the latter stand was a patchy distribution of CLB larvae which might be caused by a woody hedgerow bordering on one side of the stand. Increased density of CLB may also decrease the selectivity of grazing and smooth the differences between the samples.

The resistance of winter wheat to cereal leaf beetles is influenced by leaf surface (trichomes, waxes) and content of secondary metabolites (Kocourek, Šedivý, 1985). Chlorophyll content is a factor which varies in different cultivars, in parallel with plant vigour. Its local variation in plant stands (caused by soil fertility, nutrition, water availability) is an important factor of grazing by *Oulema* larvae.

The relationship between chlorophyll content and CLB damage or abundance of other pest species could be intuitively established by visual inspection of the stands. New technology now made it possible to easily quantify

this correlation. We suppose that chlorophyll content may become a useful predictor of the risk of damage by CLB in winter wheat stands.

Acknowledgement

We thank Mrs. L. Kreslová for excellent technical assistance.

References

- BRETON, L. M., ADDICOTT, J. F. (1992): Does host-plant quality mediate aphid-ant mutualism? *Oikos*, 63: 253–259.
- CHAMBON, J. P., VANLAERE, C. (1983): Étude des des populations d'*Oulema melanopus* L. et *Oulema lichenis* Weiss (Coleopteres Chrysomelidae) sur blé dans la région parisienne. *Agronomie*, 3: 685–690.
- FREIER, B., WETZEL, T. (1984): Abundanzdynamik von Schadinsekten im Winterweizen. *Z. Angew. Entomol.*, 98: 483 – 494.
- HAYNES, D. L., GAGE, S. H. (1981): The cereal leaf beetle in North America. *Annu. Rev. Entomol.*, 26: 259–287.
- HENNECKE, V. (1987): Blattflächenverzehr durch Larven des Blauen Getreidehähnchens *Oulema lichenis* (Voet.) (Col., Chrysomelidae) auf Gerste und Weizen. *J. Appl. Entomol.*, 103: 477–483.
- HONĚK, A. (1991a): Crop density and abundance of cereal leaf beetles (*Oulema* spp.) in winter wheat (Coleoptera, Chrysomelidae). *Z. Pfl-Krankh. Pfl-Schutz.*, 98: 174–178.
- HONĚK, A. (1991b): Dry mass allocation in cereal plants and distribution of *Metopolophium dirhodum* and *Sitobion avenae* (Homoptera: Aphididae). *Acta Entomol. Bohemoslov.*, 88: 103–109.
- HONĚK, A. (1991c): Environment stress, plant quality and abundance of cereal aphids (Hom., Aphididae) on winter wheat. *Z. Angew. Entomol.*, 112: 65–70.
- HONĚK, A. (1994): The effect of plant quality on the abundance of *Metopolophium dirhodum* (Homoptera: Aphididae) on maize. *Eur. J. Entomol.*, 91: 227–236.
- HUNT, R. (1990): Basic growth analysis. London, Unwin Hyman: 112 pp.
- KOCOUREK, F., ŠEDIVÝ, J. (1995): The assessment of injury to winter wheat caused by cereal leaf beetles, *Oulema* spp. (Chrysomelidae, Coleoptera). *Ochr. Rostl.*, 31: 107–119.
- MATTSON, W. J., HAACK, R. A. (1987): The role of drought stress in provoking outbreaks of insects. In: BARBOSA, P., SCHULTZ, J. C. (Eds): *Insect Outbreaks*. San Diego, Academic Press: 365–407.

PRESZLER, R. W., PRICE, P. W. (1995): A test of plant-vigor, plant-stress, and plant-genotype effects on leaf-miner oviposition and performance. *Oikos*, 74: 485–492.

PRICE, P.W. (1991): The plant vigor hypothesis and herbivore attack. *Oikos*, 62: 244–251.

SERVICE, P. (1984): The distribution of aphids in response to variation among individual host plants: *Uroleucon rudbeckiae* (Homoptera: Aphididae) and *Rudbeckia laciniata* (Asteraceae). *Ecol. Entomol.*, 9: 321–328.

STATSOFT (1994): Statistica for Windows. Vol. 3. Tulsa, StatSoft: 958 pp.

Received December 19, 1996

Obsah chlorofylu a poškození praporcových listů pšenice ozimé larvami kohoutků (*Oulema* sp.)

Byl zkoumán vztah mezi obsahem chlorofylu, velikostí a specifickou listovou plochou praporcových listů pšenice ozimé a jejich poškozením žírem larev kohoutků [*Oulema* spp., převážně *O. melanopus* (L.)]. Rozsah poškození byl zkoumán ve dvou porostech pšenice ozimé, na 30 (odrůda Hana) a 28 (odrůda Zdar) pozorovacích místech náhodně rozložených podél lineárního transektu. Průměrné procento sežrané listové plochy na různých pozorovacích místech se lišilo a byla prokázána závislost mezi poškozením kohoutky a obsahem chlorofylu v listech. Regresní analýza prokázala statisticky významnou závislost žíru kohoutků na obsahu chlorofylu a na velikosti listové plochy v méně poškozeném porostu odrůdy Zdar (v průměru 2,6 % sežrané listové plochy, $r^2 = 0,301$, $p < 0,05$). V silněji napadeném porostu odrůdy Hana (7,6 % sežrané listové plochy) nebyla významná závislost zjištěna pro nerovnoměrné rozložení průměrné intenzity poškození na ploše pole. Obsah chlorofylu v listech může být vhodným prediktorem rizika poškození larvami kohoutků.

praporcový list; chlorofyl; velikost listů; specifická listová plocha; kohoutci; abundance

Contact Address:

RNDr. Alois Honěk, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby
odbor rostlinolékařství, 161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika
tel.: 00 420 2 360 851, fax: 00 420 2 365 228

XIV. slovenská a česká konference o ochraně rostlin

Ve dnech 3.–4. září 1997 se na Slovenské poľnohospodárskej univerzite v Nitre (Slovenská republika) koná XIV. slovenská a česká konference o ochraně rostlin. Jednání vědecké konference bude probíhat v plenárním zasedání a v sekcích virologie a bakteriologie, mykologie, entomologie, herbologie, biologická a integrovaná ochrana rostlin. Na konferenci budou předneseny příspěvky předních evropských specialistů k aktuálním problémům rostlinolékařského výzkumu. Do programu konference je zařazena též prezentace posterů.

Referáty a postery konference budou publikovány ve sborníku v české nebo slovenské verzi jako rozšířené souhrny. Předpokládané vložné je 1200 až 1400 Sk. Konference je určena všem zájemcům o problematiku ochrany rostlin proti škodlivým činitelům v zemědělství, potravinářství a lesnictví, zejména těm, kteří pracují ve výzkumných institucích, zkušebnictví a praxi. Na konferenci budou prezentovány původní vědecké poznatky o škodlivých činitelích v rostlinné výrobě, lesnictví a potravinářství zaměřené na aktuální problémy v ochraně rostlin.

Přihlášky a bližší informace:

Organizační výbor XIV. SaČK OR
Slovenská poľnohospodárska univerzita, Katedra ochrany rostlin
A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika

Ing. Jaroslav Polák, DrSc.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, odbor rostlinolékařství
Drnovská 507, 161 06 Praha 6–Ruzyně, Česká republika

**SHORT-TERM EFFECT OF LIQUID FERTILIZER (UAN)
ON BENEFICIAL ARTHROPODS (Aranea, Opilionida, Carabidae,
Staphylinidae) IN WINTER WHEAT***

Stanislav PEKÁR

*Research Institute of Crop Production – Division of Plant Medicine,
Prague, Czech Republic*

Abstract: The short-term effect of urea and ammonium nitrate (UAN) on the abundance of beneficial arthropods in winter wheat stands was investigated. Application of UAN influenced most negatively the population of spiders, less the populations of carabids and staphylinids. Temporal recovery was observed for highly mobile invertebrates, such as *Poecilus cupreus* and *Pardosa agrestis*, suggesting that abundance of these species is influenced by prey supply. The effect of UAN disappeared within 7 weeks after application. No insecticidal activity of UAN on *Pardosa agrestis* was observed in a toxicological experiment. The sensitivity of beneficial arthropods to UAN seems to be species specific.

short-term effect; Aranea; Carabidae; Staphylinidae; Opilionida; recovery

The insecticidal effect of the frequently used liquid fertilizer UAN (solution of urea and ammonium nitrate) on *Leptinotarsa decemlineata*, *Tetranychus urticae*, *Coccinella septempunctata*, *Aphis fabae*, *Meligethes aeneus* and overwintering eggs of *Psylla mali* was first observed by Veverka et al. (1984) and Veverka, Oliberius (1987). An equimolar solution of UAN resulted in 100% mortality of *Tribolium confusum* after 24 hours (Veverka, Oliberius, 1985). Consequently, utilization of UAN for pest regulation instead of insecticide applications has been proposed. The aim of this study was to determine how and to what extent the populations of beneficial arthropods are influenced by UAN applications.

* The research was supported by grant no. 513/94/0434 of the Grant Agency of the Czech Republic.

MATERIALS AND METHODS

Field experiment

A standard dose of UAN (100 l/ha) was applied once (using a hand sprayer) on May 17 on a 1200 m² plot (termed FERT), situated in the middle of a 60 ha field of winter wheat. A neighbouring control plot (CTRL) was of the same size. Three small plots (FERT-S and CTRL-S) of 1 m² area, surrounded by a barrier made of 1 m high nylon fabric, were isolated within each plot. These isolated plots were established to prevent immigration and emigration of epigeic invertebrates and thus decrease changes due to recovery.

Invertebrates were collected by pitfall traps (plastic cups with an opening of 8 cm diameter and 0.2 l volume, filled with 4% formaldehyde). There were three traps per large plot and in the middle of each isolated small plot one trap was also placed. The traps were emptied for the first time one week after application of UAN, and then in two-week intervals from late May until July. All spiders and harvestmen were identified as to species, in Carabidae and Staphylinidae only selected abundant species were identified.

Laboratory experiment

Forty immature individuals of *Pardosa agrestis* (Westring, 1861) were collected from a field. The spiders were kept separately in plastic boxes (105 × 130 mm) with soil substrate at 18 °C, they were not fed throughout the experiment, but moistened with water (sprayed once a day in the morning), except for the first three days after the application of UAN. Twenty individuals were sprayed with a standard dose of UAN in a settling tower. The remaining spiders were reared for control. The effect of UAN was followed for another five days.

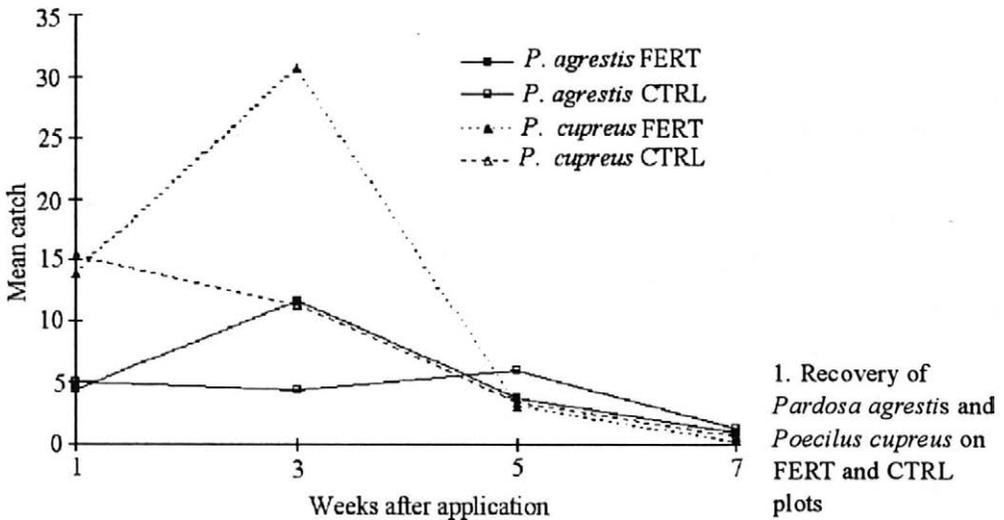
RESULTS

Field experiment

The numbers of abundant species of spiders and beetles (Table I) were transformed using $\ln(x) + 0.5$ before two-way ANOVA analysis. The analysis was performed separately for open areas and small plots and for each of four collecting dates to follow changes in recovery.

One week after application of UAN the overall abundance of arthropods on plot FERT was significantly lower ($F[1,56] = 14.54, p < 0.0003$) than on CTRL. *Erigone atra* and *Pseudophonus rufipes* were found to be most affected (Table II). Similarly, on plot FERT-S the overall density was lower than on CTRL-S ($F[1,56] = 8.41, p < 0.005$), though *Erigone atra* and *Poecilus cupreus* were more abundant on FERT-S.

Three weeks after application, the difference in overall density became negligible ($p < 0.099$, respectively $p < 0.751$ for small plots), though the density of *Pardosa agrestis* and *Poecilus cupreus* increased on FERT as a result of a temporal recovery (Fig. 1).



After a further two weeks (Table II) the original effect reappeared. The arthropod activity on plot FERT was smaller than on CTRL ($p < 0.0006$), except for *Philonthus cognatus*, *Pardosa agrestis* and *Erigone atra*. Finally, seven weeks after application the difference between sprayed and control plots was negligible ($p < 0.189$, respectively $p < 0.255$ for small plots).

Laboratory experiment

Neither mortality of *Pardosa agrestis* individuals during five days after application, nor any change in the individuals' behaviour caused by intoxication were recorded, although small droplets of UAN were visible on draglines and on the body surface of spiders for three days after application.

I. List of spiders, harvestmen and beetles and their total catches

	FERT	FERT-S	CTRL	CTRL-S
Aranea	170	155	223	99
<i>Alopecosa pulverulenta</i> (Clerck)	1			
<i>Araeoncus humilis</i> (Black.)	5	3	8	4
<i>Aulonia albimana</i> (Walck.)		2		
<i>Bathypantes gracilis</i> (Black.)	1		3	
<i>Clubiona neglecta</i> (O.P.- C.)	1			
<i>Dicymbium nigrum</i> (Black.)			1	
<i>Enoplognatha ovata</i> (Clerck)	1			
<i>Episinus angulatus</i> (Black.)		1		
<i>Erigone atra</i> (Black.)*	22	41	49	11
<i>E. dentipalpis</i> (Wider)*	11	14	18	3
<i>Haplodrassus signifer</i> (C.L.K.)		1		
<i>Lepthyphantes tenuis</i> (Black.)	1	2		
<i>Mangora acalypha</i> (Walck.)			1	
<i>Meioneta rurestris</i> (C.L.K.)	12	11	9	6
<i>Micaria pullicaria</i> (Sund.)		1		
<i>Micrargus subaequalis</i> (Westr.)	3	9	7	3
<i>Oedothorax apicatus</i> (Black.)*	12	15	19	13
<i>Oxyptila praticola</i> (C.L.K.)			1	
<i>Oxyptila simplex</i> (O.P.- C.)	4	2	4	1
<i>Pachygnatha degeeri</i> Sund.*	15	6	15	9
<i>Pardosa agrestis</i> (Westr.)*	62	28	50	29
<i>Pardosa prativaga</i> (L.K.)*	14	12	20	14
<i>Philodromus aureolus</i> (Clerck)			1	
<i>Pocadicnemis pumila</i> (Black.)			1	
<i>Theridion bimaculatum</i> (L.)		3	5	
<i>Trochosa ruricola</i> (De Geer)	1		3	2
<i>Xerolycosa miniata</i> (C.L.K.)				1
<i>Xysticus kochi</i> Thorell		1	3	1
<i>Zelotes lutetianus</i> (L.K.)	4	3	1	

Table I to be continued

	FERT	FERT-S	CTRL	CTRL-S
<i>Zelotes pusillus</i> (C.L.K.)			1	1
<i>Zelotes</i> sp.			1	
<i>Zora spinimana</i> (Sund.)			1	
<i>Walckenaeria vigilax</i> (Black.)			1	1
Oplionida	9	6	10	8
<i>Phalangium opilio</i> L.*	9	6	10	8
Carabidae	220	60	212	81
<i>Anchomemus dorsalis</i> (Pontop.)*	38	13	32	16
<i>Harpalus affinis</i> (Schrank)*	12	16	21	8
<i>Poecilus cupreus</i> (L.)*	144	19	92	38
<i>Pseudoophonus rufipes</i> (De Geer)*	22	9	52	15
<i>Pterostichus melanarius</i> (Illiger)*	4	3	15	4
Staphylinidae	52	10	35	20
<i>Philonthus cognatus</i> (Stephens)*	52	10	35	20

* indicates species included in the analysis

DISCUSSION

The application of UAN resulted in a decline of the density of invertebrates in the first week after application. It was expected that progressive recovery would follow. Instead, a temporal recovery was observed for *P. cupreus* and *P. agrestis* (Fig. 1), both highly mobile species. Wallin and Ekblom (1994) found that the hunger level had a significant effect on movement of *P. cupreus*. It seems that spraying disturbed local inter- and intraspecific interactions, resulting in immigration of new individuals. But as no prey was available they soon left again. A similar temporal response was also recorded for males of *E. atra* after Fenvalerate application (Dinter, Poehling, 1992).

The real reason for the decline in density is still in question. It is not known whether UAN caused mortality of predators or whether it killed their prey,

II. Mean capture of selected species at three stages after application

	FERT	CTRL	FERT-S	CTRL-S
1 week after				
<i>E. atra</i>	1.7	10.3	8.3	1.3
<i>E. dentipalpis</i>	1	2.7	2.3	0.3
<i>P. agrestis</i>	4.3	5	3.7	2.3
<i>P. cupreus</i>	14	15.3	2.7	1.7
<i>P. rufipes</i>	1.7	5	0	1.3
<i>P. cognatus</i>	1	0.7	0.3	1
3 weeks after				
<i>E. atra</i>	3	3.7	3.3	0.3
<i>E. dentipalpis</i>	1.3	2.3	1.3	0.3
<i>P. agrestis</i>	11.7	4.3	4.3	4.3
<i>P. cupreus</i>	30.7	11.3	2.3	5.3
<i>P. rufipes</i>	1.3	1.3	1	2.3
<i>P. cognatus</i>	7	5.7	2.7	2
5 weeks after				
<i>E. atra</i>	1	2.7	2.3	0.3
<i>E. dentipalpis</i>	2.7	5.7	2	2.3
<i>P. agrestis</i>	3.7	6	8.3	1.3
<i>P. cupreus</i>	3	3.3	0	1.3
<i>P. rufipes</i>	0	2	0.3	0
<i>P. cognatus</i>	3	3.3	2.7	1.7

which then led the predators to emigrate. A more detailed study is needed, including observations of prey abundance.

On the isolated small plots slower changes in recovery were expected. However, the nylon fabric barrier did not provide sufficient isolation, although it helped to determine the temporal influx of *P. cupreus* and *P. agrestis* three weeks after application. The role of the small plots is also doubted because of the spatial distribution of spiders and beetles (e.g. the high number of *E. atra* on the FERT-S plot).

The mode of action and reasons for the insecticidal activity of UAN are still unknown. Wehling and Heimbach (1994) observed nerve paralysis of *P. agrestis* caused by intoxication with pyrethroids (lambda-cyhalothrin, endosulfan). None of such effects was observed after UAN application. UAN is highly hygroscopic, therefore the droplets do not dry up and the solution remains active for a long time. This perhaps enables UAN to penetrate the cuticle and to affect the inner tissues of some invertebrates (Veverka, Oliberius, 1987). Since the body of lycosid spiders is covered with hairs and spines there is no contact between the UAN and the cuticle. This may be the reason for the absence of insecticidal activity of UAN on *P. agrestis*. However, for liniphiid spiders (*E. atra*, *E. dentipalpis*, *O. apicatus*) and for beetles lacking a protective hair cover, the effect of UAN might be detrimental.

Acknowledgements

I wish to thank Dr. A. Honěk for giving critical and linguistic comments on the manuscript. I am very grateful to M. Kocian for identification of Staphylinidae and to O. Hovorka for Carabidae identification.

References

- DINTER, A., POEHLING, H.-M. (1992): Spider populations in winter wheat and the side-effect of insecticides. *Aspects Appl. Biol.*, 31: 77–85.
- VEVERKA, K., OLIBERIUS, J., NOVÝ, J. (1984): Účinky kapalného hnojiva DAM 390 proti hmyzu. *Zemědělec* 34/17: 2.
- VEVERKA, K., OLIBERIUS, J. (1985): Synergistic insecticidal activity of urea and ammonium nitrate. *Z. PflKrankh. PflSchutz.*, 92: 258–262.
- VEVERKA, K., OLIBERIUS, J. (1987): Side-effect of foliar application of urea + ammonium nitrate solution on the Colorado beetle. *J. appl. Ent.*, 103: 119–124.
- WALLIN, H., EKBOM, B. (1994): Influence of hunger level and prey densities on movement patterns in three species of Pterostichus beetles (Coleoptera: Carabidae). *Environ. Entomol.*, 23: 1171–1181.
- WEHLING, A., HEIMBACH, U. (1996): Effects of two insecticides (lambda-cyhalothrin and endosulfan) on spiders in laboratory, semi-field and field tests. *IOBC/WPRS Bulletin* (In press).

Received September 26, 1996

Krátkodobý účinek tekutého hnojiva DAM 390 na přirozené nepřátele škůdců pšenice ozimé (Aranea, Opilionida, Carabidae, Staphylinidae)

Byl sledován krátkodobý účinek hnojiva DAM 390 na nejhojnější přirozené nepřátele škůdců pšenice ozimé. Postřik DAM 390 měl negativní vliv především na společenství pavouků, menší vliv na populace střeplíků a drabčků. U mobilních druhů bezobratlých, jako *Poecilus cupreus* a *Pardosa agrestis*, bylo pozorováno dočasné znovuosídlení, které napovídá, že výskyt těchto druhů je ovlivněn hojností kořisti. Účinek přípravku DAM 390 vymizel sedm týdnů po postřiku. Insekticidní účinek DAM 390 na jedince *P. agrestis* v toxikologických pokusech nebyl prokázán. Zdá se, že insekticidní účinek přípravku DAM je druhově specifický.

DAM 390; krátkodobý účinek; Aranea; Carabidae; Staphylinidae; Opilionida; znovuosídlení

Contact Address:

Mgr. Stanislav P e k á r, Výzkumný ústav rostlinné výroby
odbor rostlinolékařství, Praha 6-Ruzyně, Česká republika
tel.: 00 420 2 365 851, fax.: 00 420 2 365 228

GEOGRAPHIC VARIATION IN THE RATE OF SEED DORMANCY TERMINATION IN BARNYARD GRASS, *Echinochloa crus-galli**

Zdenka MARTINKOVÁ, Alois HONĚK

Research Institute of Crop Production – Division of Plant Medicine,
Prague, Czech Republic

Abstract: The time required for termination of seed dormancy was tested in samples of seeds of 22 populations of *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. from central Bohemia. Three months after collecting, water imbibed caryopses were placed at 5 °C and in darkness. The percentage of germination was ascertained in 14 d intervals, on 3 x 50 caryopses at 25 °C and short day conditions. The rate of increase of germination during dormancy termination (0.5–2.0 % per day) and time to 50% germination (92–208 days) varied between local populations. The latter was positively but weakly correlated with the incidence of primary dormancy in the populations. Genetic differences may contribute to local variation in seed dormancy, being probably favoured by the self-pollinating reproduction of barnyard grass.

germination; overwintering; temperature; moisture

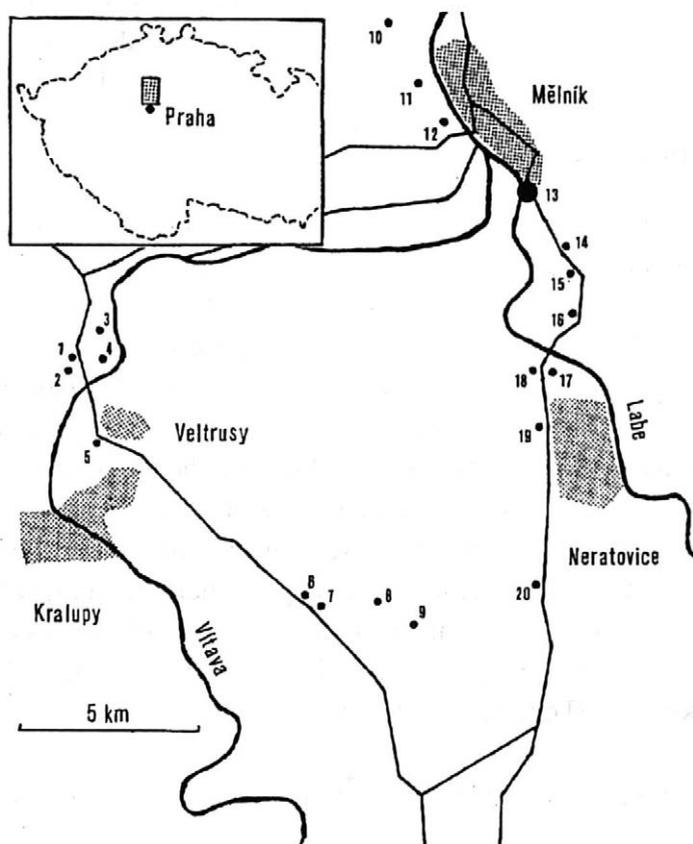
Caryopses of the barnyard grass *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. mature in August–October and are nearly 100% dormant. Part of the caryopses become capable of germination only after a period of ca. 60–90 days of after-ripening at dry conditions and elevated temperature. The proportion of germinating caryopses varies between local populations and this variation has a genetic basis (Brod, 1968; Barrett, Wilson, 1983; Martinková, Honěk, 1995a, b; Honěk, Martinková, 1996). In the open, dormancy ends only during the winter by the effects of cold temperature on water imbibed caryopses that overwinter on the soil surface or within the upper soil layer. The proportion of germinating caryopses increases gradually throughout the winter period. The course of dormancy termination is influenced by weather conditions, but also varies with geographic origin of the caryopses (Martinková, Honěk, 1995a).

* The work was partly funded by grant no. 513/95/0681 of the Grant Agency of the Czech Republic.

This paper reports on laboratory experiments that investigated the geographic variation in the rate of dormancy termination of imbibed seeds under standard chilling conditions.

MATERIAL AND METHODS

The seed material was collected in 1991, at 22 localities of central Bohemia ($50^{\circ}06' - 50^{\circ}24' \text{ N}$, $14^{\circ}15' - 14^{\circ}32' \text{ E}$). The localities (Fig. 1, Table I) were situated in the Středolabská planina lowland near the confluence of Labe and Vltava Rivers at 170–200 m a.s.l. (nos. 1–5, 10–20), in the western part of the Českobrodská tabule plateau at 240–280 m a.s.l. (nos. 6–9), and at Prague-Ruzyně at 340 m a.s.l. (nos. 21–22). The caryopses were collected during the early period of seed maturation, on Aug. 23 and 28, by gentle sweeping with an entomology net. After harvesting the caryopses were



1. Geographic origin of populations. The map shows part of the western Czech Republic (insert), with principal rivers (Labe, Vltava), small cities (shaded), and principal roads (heavy lines) along which the collection of seeds was made. Numbering of localities is concordant with Table I. The Prague-Ruzyně localities (21–22) are in the southwest, closely outside the represented area

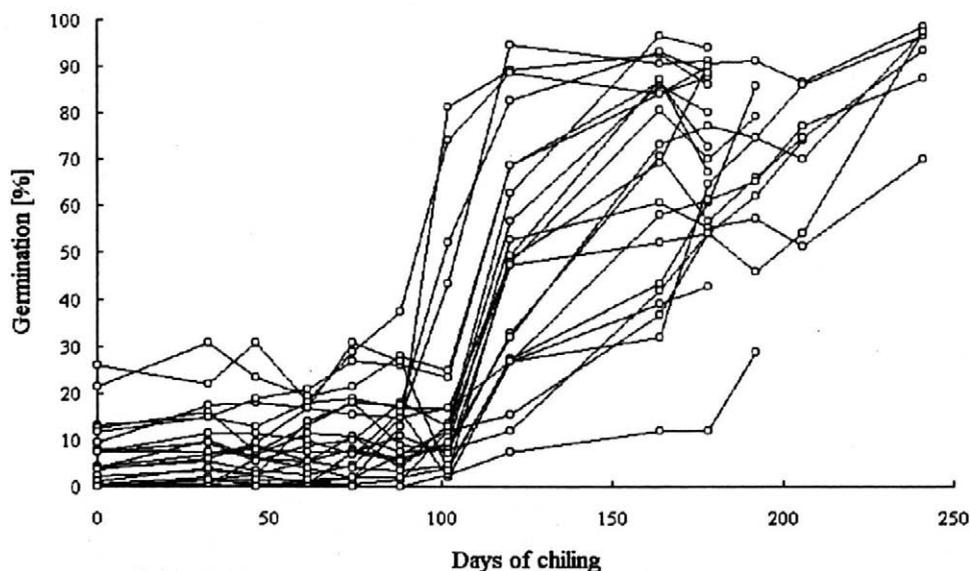
I. Variation of the intensity of dormancy in caryopses of 22 local populations of central Bohemia: Days to 50% germination during dormancy termination of imbibed caryopses at 5 °C, proportion of non-dormant caryopses in the materials of 1991 used in the experiment (before cold activation), and average proportion of non-dormant caryopses at the localities in 1991–1993 (Honěk, Martinková, 1996). The numbering of localities is concordant with Fig. 1

No	Locality	Days to 50% germination	Germination 1991	Average germination 1991–1993
1	Nelahozeves	95	0.3	0.8
2	Nelahozeves	173	4.4	4.3
3	Staré Ouholice	103	8.0	4.3
4	Staré Ouholice	122	0.6	0.3
5	Veltrusy	170	18.2	17.3
6	Odolena Voda	92	26.0	22.7
7	Odolena Voda	172	12.0	11.3
8	Dolíněk	168	1.0	2.2
9	Panenské Břežany	115	2.4	5.9
10	Dolní Beřkovice	112	22.0	25.9
11	Vlíněves	122	17.2	20.0
12	Brozánky	139	7.4	6.1
13	Mělník	118	4.6	9.3 ^b
14	Mělník	139	0.0	5.8
15	Kelské Vinice	142	9.6	6.4
16	Kly	202 ^a	5.6	9.5
17	Obříství	117	3.6	8.5
18	Obříství	112	11.6	14.6
19	Libiš	151	7.4	8.1
20	Předboj	100	1.0	1.5
21	Prague-Ruzyně	208 ^a	0.0	0.5
22	Prague-Ruzyně	120	5.2	4.4

a – calculated by linear extrapolation of the rate of dormancy termination between the last two experimentally established data

b – average of 1991–1992

stored in open boxes at 25 °C and 40% relative humidity. The proportion of germinating caryopses in this material was determined three months after harvest. The experiment on termination of dormancy by exposure of imbibed caryopses to cold was established on December 6, 1991. The lots of caryopses from the different localities were wrapped into pieces of nylon fabric, put into boxes filled with wet sand, and placed into constant 5 °C and darkness. Chilling was continued for 240 days (some replicates were terminated earlier due to exhaustion of seed supplies). Throughout this period, samples of seeds were removed in 14 day intervals and percent germination was ascertained at 25 °C under light conditions (4L : 20D). Fifty caryopses were placed on moist filter paper in a Petri dish of 10 cm diameter, in three replicates for each locality. The percentage of germinating caryopses was recorded after 7 days. We recorded the rate of the change of germination percentage in the 30–60 d period of rapid change of dormancy incidence, and the time which elapsed from the start of cold exposure until 50% germination. The statistic calculations were processed by STATGRAPHICS software (Statistical Graphics Corporation, 1989).

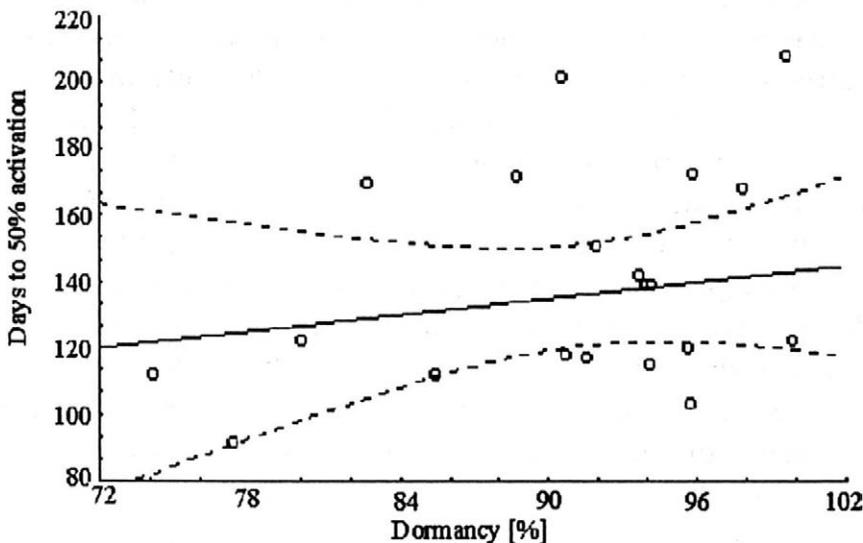


2. Increase of the percentage of germination during 240 day exposure at 5 °C of imbibed dormant caryopses. Seed samples from 22 localities of central Bohemia (Table I)

RESULTS

The course of dormancy termination varied considerably between populations (Fig. 2). The proportion of dormant caryopses remained similar to the initial percentage of dry caryopses up to a period of about 80–100 days of chilling. Thereafter the incidence of germinating caryopses increased rather rapidly for about 30–60 days. The rate of increase of germination percentage during this period varied between 0.5–2.0%/d (mean \pm SD = $1.1 \pm 0.4\%/d$). In seeds from different localities 50% germination was achieved after 92–208 days (mean \pm SD = 136.0 ± 32.7 days). The final germination in completely activated seeds (percentage of germination did not increase further) was 87–98%.

The rate of dormancy termination by chilling (as indicated by time to 50% germination) was positively but weakly correlated with the incidence of original dormancy in caryopses used in the experiment (Table I), as well as with the 3 year average incidence of dormancy of seeds from the localities where they originated (Fig. 3). The regression of time to 50% germination on level of primary dormancy was below the level of statistical significance ($r = 0.18$, $p > 0.1$).



3. Regression of the time required to attain 50% germination during activation of dormant caryopses at 5 °C (days) on average (1991–1993) incidence of primary dormancy in local populations of seed (Honěk, Martinková, 1996)

DISCUSSION

The results revealed a considerable variation in the course of termination of dormancy in water-imbibed caryopses exposed to cold. The differences indicated geographic variation in the intensity of seed dormancy. The existence of variation parallels earlier results (Honěk, Martinková, 1996) which demonstrated differences in the incidence of primary dormancy. We suppose that both incidence of primary dormancy as well as rate of its cold (winter) termination may be manifestations of a common tendency for arrest of seed development. In fact, there was a positive relationship between both characters, which were, however, only weakly correlated. Perhaps the lack of a significant correlation may be due to low precision of the criteria for determining dormancy intensity in the cold. The method used in this study required serial germination experiments of which each was affected by experimental variables. This cannot be completely avoided and decreased the precision of calculating the time to 50% activation. However, further experiments might also reveal that primary incidence and rate of winter termination of seed dormancy measure different aspects of overwintering physiology in barnyard grass.

Earlier we have argued that geographic variation of the incidence of primary dormancy is partly genetically controlled (Honěk, Martinková, 1996), although environmental factors may also contribute (Potvin, Charest, 1991; Charest, Potvin, 1993; Honěk, Martinková, 1996). This may be true also for variation in the rate of cold activation. In fact, this may be a facet of high genetic variation in *E. crus-galli* populations (cf. Gasquez, Compoint, 1977; Maun, Barrett, 1983; Barrett, 1988) which is a prerequisite to the great colonizing success of this species. Local differentiation of dormancy intensity is favoured by self-pollinating reproduction of the species. The role of this variation in the biology of the species is uncertain. Dormancy proportions may be selected due to some adaptive property or fluctuate randomly without direct adaptive significance for species survival.

Acknowledgements

We thank Miss Jitka Králová and Mrs Ludmila Kreslová for excellent technical assistance.

References

- BARRETT, S. C. H. (1988): Genetics and Evolution of Agricultural Weeds. In: AL-TIERI, M. A., LIEBMAN, M. (Eds.): Weed Management in Agroecosystems: Ecological Approaches. Boca Raton, CRC Press: 57–75.
- BARRETT, S. C. H., WILSON, B. F. (1983): Colonizing ability in the *Echinochloa crus-galli* complex (barnyard grass). II. Seed biology. *Can. J. Bot.*, 61: 556–562.
- BROD, G. (1968): Untersuchungen zur Biologie und Ökologie der Hühner-Hirse *Echinochloa crus-galli* L. Beauv. *Weed Res.*, 8: 115–127.
- CHAREST, C., POTVIN, C. (1993): Maternally induced modification of progeny phenotypes in the C4 weed *Echinochloa crus-galli*: An analysis of seed constituents and performance. *Oecologia*, 93: 383–388.
- GASQUEZ, J., COMPOINT, J. P. (1977): Mise en évidence de la variabilité génétique infrapopulation par l'utilisation d'isoenzymes foliaires chez *Echinochloa crus-galli* (L.) P. B. *Ann. Amélior. Plant.*, 27: 267–278.
- HONĚK, A., MARTINKOVÁ, Z. (1996): Geographic variation in seed dormancy among populations of *Echinochloa crus-galli*. *Oecologia*, 108: 419–423.
- MARTINKOVÁ, Z., HONĚK, A. (1995a): Termination of dormancy in caryopses of barnyard grass, *Echinochloa crus-galli*. *Ochr. Rostl.*, 31: 11–17.
- MARTINKOVÁ, Z., HONĚK, A. (1995b): Seasonal changes in the occurrence of seed dormancy in caryopses of the barnyard grass, *Echinochloa crus-galli*. *Ochr. Rostl.*, 31: 249–256.
- MAUN, M. A., BARRETT, S. C. H. (1986): The biology of Canadian weeds. 77. *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. *Can. J. Plant. Sci.*, 66: 739–759.
- POTVIN, C., CHAREST, C. (1991): Maternal effects of temperature on metabolism in the C4 weed *Echinochloa crus-galli*. *Ecology*, 72: 1973–1979.
- STATISTICAL GRAPHICS CORPORATION (1989): Statgraphics user guide, version 4.0, STSC Inc, Rockville, MD, USA.

Received October 8, 1996

**Geografická variabilita rychlosti ukončení dormance obilek
ježatky kuří nohy, *Echinochloa crus-galli***

Byl zkoumán průběh ukončení dormance obilek ježatky kuří nohy, *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv., odebraných na 22 stanovištích ve středních Čechách. Zralé obilky byly tři měsíce po sklizni uloženy ve vlhkém písku a vystaveny v temnu teplotě 5 °C. Ve čtrnáctidenních intervalech bylo odebíráno 3 x 50 obilek, jejichž klíčivost byla zjišťována ve 25 °C při krátkodenní fotoperiodě. Mezi materiály z různých lo-

kalit byly zjištěny velké rozdíly v rychlosti změn klíčivosti v období ukončení dormance (0,5–2,0 %/d) a v době potřebné k dosažení 50% klíčivosti obilek (92 až 208 dnů). Posledně jmenovaný znak byl v pozitivní, nikoli však statisticky průkazné korelaci s procentem dormantních obilek v materiálech z příslušných lokalit. Vzniku geografických rozdílů v podílu dormantních obilek, který je patrně podmíněn geneticky, zřejmě napomáhá samosprašnost ježatky kuří nohy.

klíčení; přezimování; teplota; vlhkost

Contact address:

RNDr. Alois Honěk, CSc. Výzkumný ústav rostlinné výroby
odbor rostlinolékařství, 16 106 Praha 6-Ruzyně, Česká republika
tel.: 00 420 2 360 851, fax: 00 420 2 365 228

ÚČINNOST' BIOPREPARÁTOV V OCHRANE JAČMEŇA JARNÉHO PROTI FUZARIÓZAM

Efficacy of Bioformulations to Protect Spring Barley from Fusarial Diseases

Alla MICHALÍKOVÁ, Jozef MICHŘINA

Slovak University of Agriculture – Faculty of Agronomy,
Nitra, Slovak Republic

Abstract: The efficacy of the bioformulation Trichonitrin and its derivative chemomutants 1T and 4T against *Fusarium culmorum* was evaluated in medium-scale field trials. The bioformulation has been developed on basis of the saprophytic fungus *Trichoderma harzianum*, strain B1, which had been isolated from the rhizosphere of winter wheat. Laboratory and field experiments proved a high biological effectivity of the bioformulation. Its efficacy against *F. culmorum* was evaluated at each growth stage of barley. All tested strains of the bioformulation caused a high rate of growth stimulation of shoots and roots, and a decrease of the number of damaged plants.

Fusarium culmorum; *Trichoderma harzianum*; spring barley; Vitavax 200 FF; Trichonitrin

Abstrakt: Zisťovali sme účinnosť biopreparátu Trichonitrin a chemomutantov jeho účinnej zložky 1T a 4T proti fytopatogénnej hube *Fusarium culmorum* v poloprevádzkových podmienkach. Získaný preparát bol vyvinutý na báze saprofytickej huby *Trichoderma harzianum* kmeň B1 izolovaný z rhizosféry pšenice ozimnej. Laboratórne a poľné pokusy ukázali na vysokú biologickú účinnosť získaného bioagensa. Účinnosť biopreparátu sme sledovali v každej rastovej fáze jačmeňa. Všetky tri testované kmene pri jačmeni jarnom vyvolali silnú stimuláciu rastu nadzemných a podzemných orgánov rastliny a redukciu počtu napadnutých rastlín.

Fusarium culmorum; *Trichoderma harzianum*; jačmeň jarný; Vitavax 200 FF; Trichonitrin

Problematika biologickej účinnosti preparátov získaných zo živého rastlinného materiálu je aktuálna a jej technicko-biologické parametre spočívajú v získaní podkladov pre biologickú ochranu proti chorobám jačmeňa jarného, pôvodcami ktorých sú huby z rodu *Fusarium*. Pod biologickou ochranou v tomto zmysle sa rozumie spôsob boja proti fytopatogénnym mikroorganizmom využitím vlastností iných živých mikroorganizmov, a to pomocou ich živých buniek alebo produktov ich metabolizmu. Výhody izolovaného bioagensu pri využití fenoménu „huba proti hube“ spočívajú aj v aplikačných metódach:

- rovnomernosť rozptylu bioagensa na povrch osiva;
- možnosť jeho zapravenia do pôdy s výsevným materiálom do správnej hĺbky na oševné lôžko, čo umožní bezprostredný kontakt s rastúcou rastlinou, ktorú má bioagens ochraňovať;
- suspenziu biopreparátu je možné aplikovať foliárne;
- v preparátoch sa môžu nachádzať umelo vytvorené asociácie kompatibilných mikroorganizmov;
- využívať doteraz existujúcu aplikačnú techniku.

Počet bioagensov schopných praktického využitia je zatiaľ malý a väčšina z nich sa aplikuje proti živočíšnym škodcom. V roku 1992 Federálny úrad pre vynálezy v Prahe udelil patent č. 276528 podľa par. 3 ods. 3 č. 527 skupine vedeckých pracovníkov Katedry ochrany rastlín AF VŠP v Nitre za vývoj a overenie biopreparátu Trichonitrin na ochranu osiva pšenice proti chorobám prenosným semenom.

Vysoká variabilita patogénnych mikroorganizmov a s tým spojená asociácia s mykoparazitami, rozsah ktorých sa mení v závislosti od sledovaných lokalít, zaručuje pôvodnosť dosiahnutých výsledkov.

Získaný preparát Trichonitrin vyvinutý na báze saprofytickej vláknitej huby *Trichoderma harzianum* kmeň B1bol izolovaný z rhizosféry pšenice ozimnej (Michalíková et al., 1992). Laboratórne pokusy v podmienkach *in vitro* ukázali na vysokú biologickú účinnosť získaného bioagensa najmä proti hubám z rodu *Fusarium* (Michalíková et al., 1985). Na základe viacročných výskumov sa začali vyrábať preparáty na báze húb uvedeného rodu. Je to prípravok firmy Bio-inovacion (Ricard, 1983), ktorý obsahoval drvenú kôru ihličnanu, prášok kultúry *Trichoderma* sp. a určitú dávku NPK-živín. Vsúčasnosti sa tento prípravok aplikuje proti striebnistosti listov – *Chondro-*

sterium purpureum. Preparáty na báze húb z rodu *Trichoderma* boli vyvinuté v rôznych štátoch Európy (Dri mal, 1987; H a d a r et. al., 1984; P r o k i n o - v á, 1987; S u c h o v á, 1987 a i.). Niektorí autori považujú za vhodnú kombináciu ošetrovanie semien kultúrou huby *Trichoderma* spp. s fungicídami, ktoré potlačujú jej konkurentov.

Cieľom výskumných prác na Katedre ochrany rastlín bolo otestovať účinnosť biopreparátu Trichonitrin a jeho chemomutantov 1T a 4T proti fytopatogénnej hube *Fusarium culmorum*. Mutanty získané pôsobením chemomutagénnej látky N-methyl-N-nitro-N-nitrosoquanidine (NTG) sa líšia od svojho rodičovského izolátu *Trichoderma harzianum* B1 hlavne stupňom rezistencie ku karbamátovým účinným látkam fungicídov (M i c h r i n a, 1993).

MATERIÁL A METÓDY

Na pozemku výskumno-experimentálneho pracoviska Malanta AF VŠP Nitra bol založený maloparcelkový pokus s jačmeňom jarným s použitím týchto variantov:

1. Kontrola
2. Osivo morené fungicídnom Vitavax 200 FF 2,5 l/t osiva
3. Osivo morené biopreparátom Trichonitrin (*Trichoderma harzianum* B1) dávka 3 kg/t osiva
4. Osivo morené chemomutantom huby *Trichoderma harzianum* 1T dávka 3 kg/t osiva
5. Osivo morené chemomutantom huby *Trichoderma harzianum* 4T dávka 3 kg/t osiva

Testovali sme odrodu jačmeňa jarného Novum (výsevok 5,5 mil. klíčivých zrn; predplodina pšenica ozimná; veľkosť parceliek 2 x 13 m). Spôsob hodnotenia účinnosti testovaných preparátov počas celého produkčného procesu bol prevzatý z metodického postupu (M i c h a l í k o v á et al., 1992).

Prvé hodnotenie bolo vykonané v rastovej fáze dvoch listov. Boli sledované tieto ukazovatele:

- počet vzídených rastlín,
- dĺžka a hmotnosť sušiny nadzemnej a podzemnej časti,
- počet koreňov,
- počet zdravých a chorých rastlín.

V rastovej fáze plné odnožovanie bol hodnotený:

- počet hlavných stebiel,
- počet odnoží,
- dĺžka nadzemnej časti,
- počet zdravých a chorých hlavných stebiel a odnoží.

Tretie hodnotenie bolo vykonané v rastovej fáze kvitnutie. Hodnotenú boli rovnaké znaky ako v rastovej fáze plné odnožovanie.

Pri štvrtom hodnotení vykonanom počas rastovej fázy plná zrelosť bol sledovaný:

- počet hlavných stebiel,
- počet odnoží,
- dĺžka nadzemnej časti,
- počet zdravých a chorých hlavných stebiel a odnoží,
- počet zrn a HTZ klasov zdravých a chorých hlavných stebiel a odnoží,
- úroda z 1 m².

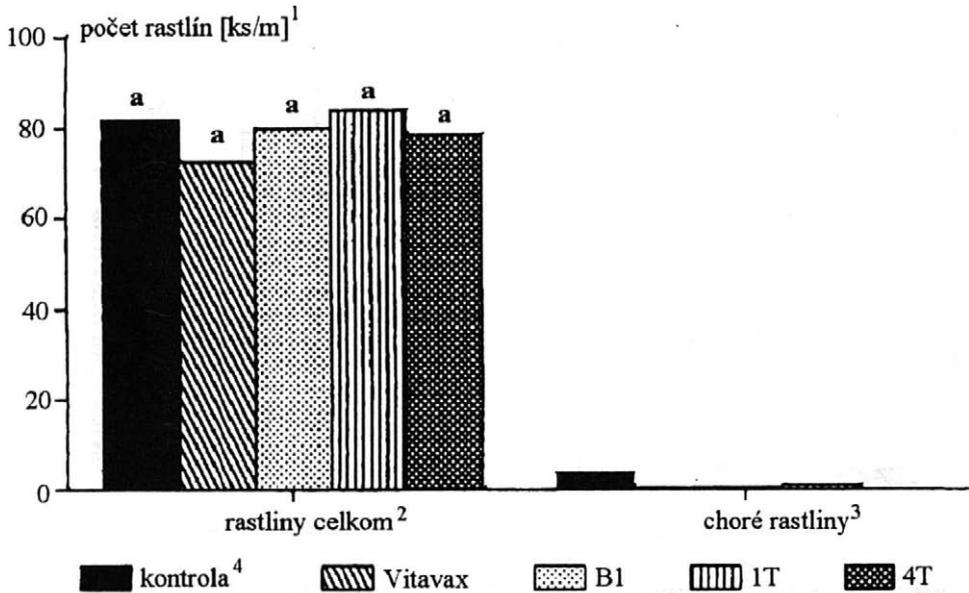
Pri jednotlivých odberoch boli rastliny hodnotené z jedného riadku s dĺžkou jedného metra. Pre všetky hodnotené rastové fázy bolo v porovnaní s kontrolným variantom vypočítané percento redukcie počtu chorých rastlín v porovnaní s kontrolným variantom. Dosiahnuté výsledky boli spracované analýzou rozptylu a LSD testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vzchádzanie

Na počet vzídených rastlín jednotlivé ošetrenia v porovnaní s kontrolným variantom nemali štatisticky preukazný vplyv. Najnižší počet vzídených rastlín na jednom metri (72,3) bol zistený vo variante ošetrovom Vitavaxom 200 FF, najvyšší pri 1T (83,7) – obr. 1. Chemomutant 1T preukázal aj najvyššiu rastovú stimuláciu nadzemnej a podzemnej časti rastlín. Namerané hodnoty pre tieto dva sledované znaky však medzi jednotlivými variantami neboli pri zvolenej štatistickej metóde preukazné.

Na počet koreňov mali vysokopreukazný vplyv ošetrenia prípravky Vitavax 200 FF, 1T a 4T s najvyššou hodnotou pri 4T (5,21). Medzi kontrolným variantom a variantom ošetrovaným kmeňom B1 rozdiely preukazné neboli.



¹ number of plants per m; ² total number of plants; ³ diseased plants; ⁴ control

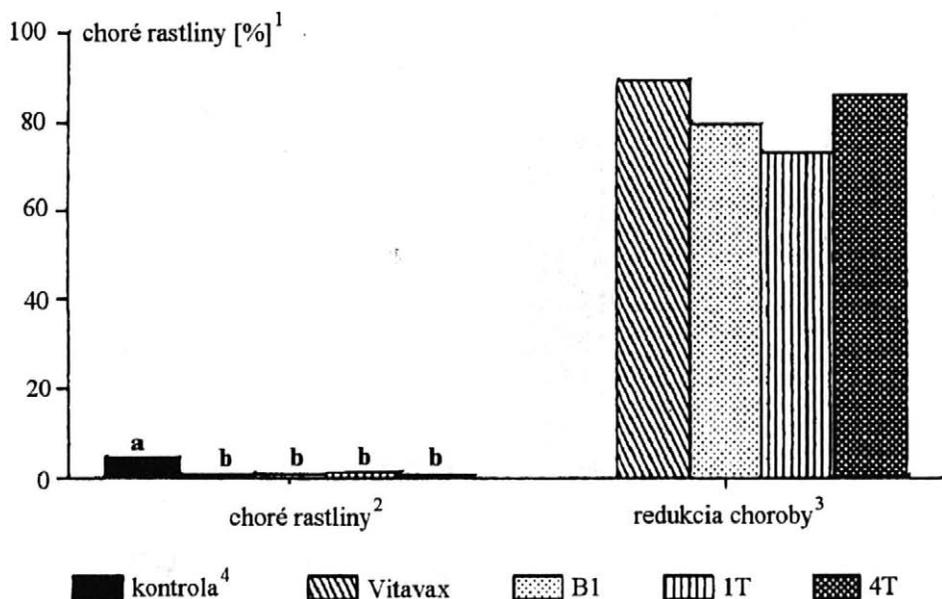
1. Vplyv ošetrení osiva na zdravotný stav jačmeňa v rastovej fáze vzchádzanie – Influence of the seed treatment on health conditions of barley at emergence stage

Vysvětlivky pro obr. 1–8: Stĺpcové hodnoty sérií označené rovnakými písmenami sú podľa LSD testu pri $P_{0,05}$ štatisticky nepreukazné – Explanation for Figs. 1–8: Column values of the series denoted with the same letters are not significant at $P_{0,05}$ according to LSD test

Pri hodnotení zdravotného stavu bolo najvyššie percento chorých rastlín (4,39 %) pozorované v kontrolnom variante. Všetky ošetrenia mali na tento ukazovateľ pozitívny, štatisticky preukazný vplyv; Vitavax 200 FF a 4T vysokopreukazný. Najnižší počet chorých rastlín bol vo variante ošetrenom fungicídom Vitavax 200 FF – 0,47 %. Fungicídna účinnosť tohto prípravku bola 89,3 %. Biologická účinnosť biopreparátu *Trichonitrin* (*Trichoderma harzianum* kmeň B1) dosiahla hodnoty 79,5 %, kmeňa 1T 73,1 % a 4T 85,9 % (obr. 2).

Plné odnožovanie

Najvyšší počet hlavných stebiel bol stanovený vo variante ošetrenom kmeňom 1T – 81,67 hlavných stebiel na jednom metri. Ich najnižší počet bol vo variante ošetrenom B1. Najnižšia odnožovacia schopnosť bola zistená



¹diseased plants (%); ²disease decline; ³control

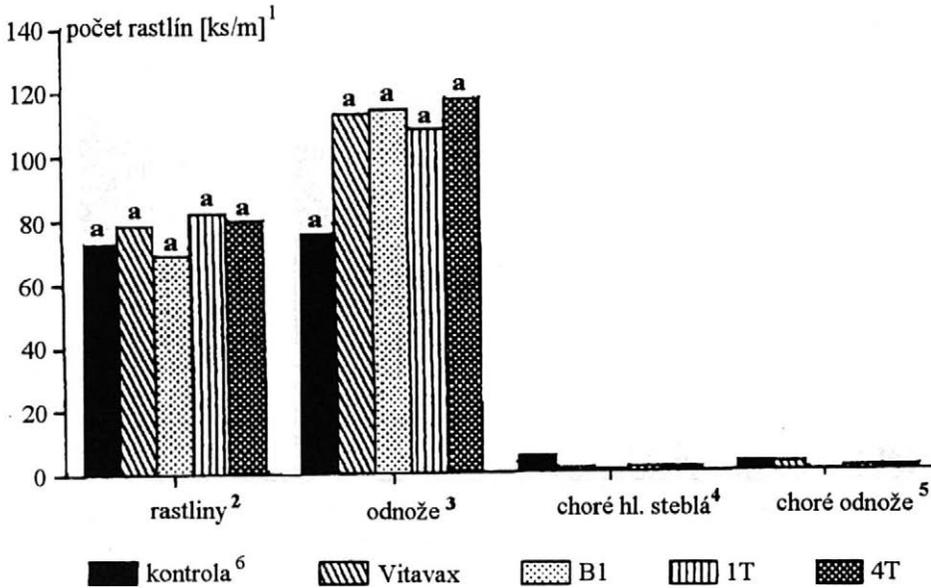
2. Vplyv ošetrení osiva na zdravotný stav jačmeňa v rastovej fáze vzhádzanie – Influence of the seed treatment on health conditions of barley at emergence stage

v kontrolnom variante, kde počet odnoží (75,33) bol o 41,34 nižší ako vo variante ošetrenom kmeňom 4T (obr. 3).

Najväčšia dĺžka nadzemnej časti (199,75 mm) bola opäť nameraná pri ošetrení mutantom 1T, najmenšia (188,8 mm) pri B1, pričom rozdiely neboli štatisticky preukazné (obr. 4).

Všetky ošetrenia štatisticky preukazne znižovali percento chorých hlavných stebiel. Najvyššie percento chorých hlavných stebiel (6,68 %) bolo pozorované v kontrole, najnižšie (0,91 %) pri Vitavaxe 200 FF. Dezinfekcia osiva moridlom mala účinnosť 86,38 %. Účinnosť biopreparátu Trichonitrin dosiahla 85,75 %. Kmene 1T a 4T znižovali počet chorých rastlín v porovnaní s kontrolným variantom o 75,9 %, resp. o 74,1 %.

Zdravotný stav odnoží pozitívnym spôsobom ovplyvnili len aplikácie kmeňov B1 a 4T. Biologická účinnosť *Trichoderma harzianum* kmeň B1 (Trichonitrin) dosiahla hodnoty 94,5 %, kmeň 1T 82,55 % a kmeň 4T 85,7 %. Fungicídna účinnosť prípravku Vitavax 200 FF bola v porovnaní s biochémickými schopnosťami *Trichoderma harzianum* nižšia – len 53,14 % (obr. 4).



¹number of plants per m; ²plants; ³tillers; ⁴diseased main stems; ⁵diseased tillers; ⁶control

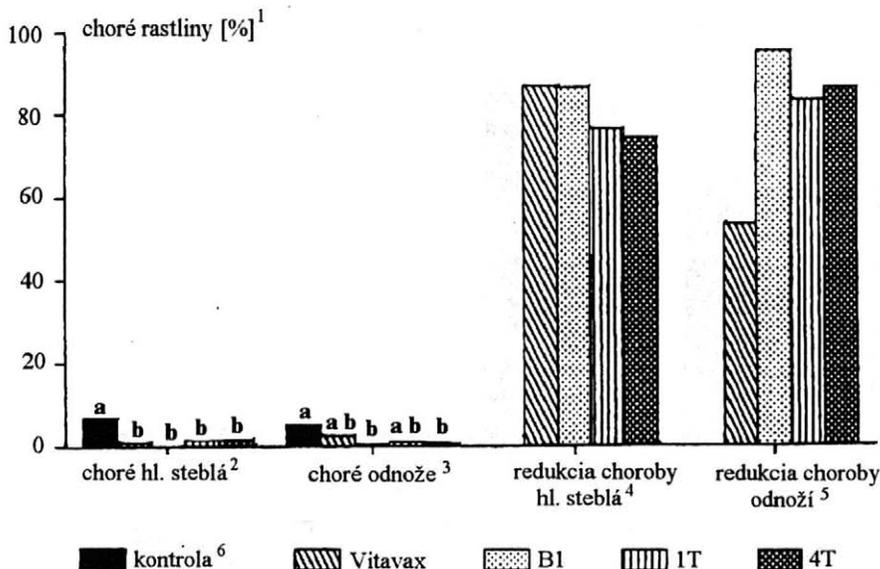
3. Vplyv ošetrení osiva na zdravotný stav jačmeňa v rastovej fáze odnožovanie – Influence of the seed treatment on health conditions of barley at tillering stage

Kvitnutie

Najvyšší počet hlavných stebiel bol zistený vo variante ošetrenom kmeňom 1T – 81,67, najnižší pri ošetrení fungicídom Vitavax 200 FF – 71,00. Rozdiely medzi jednotlivými variantami neboli štatisticky preukazné. Na počet odnoží mali preukazný vplyv len B1 a 1T s najvyššou hodnotou pri 1T (110) – obr. 5.

Najväčšiu dĺžku nadzemnej časti (530,8 mm) dosiahli rastliny ošetrené B1.

Preukazne nižšie percento chorých hlavných stebiel bolo pozorované vo variantoch ošetrených 1T a 4T. Biologická účinnosť mutanta 4T dosiahla 76,65 %, kmeňa B1 (Trichonitrin) 60,08 % a 1T 68 %. Neošetrený variant preukazoval aj najväčší výskyt chorých odnoží – 31,34 %. Počet chorých odnoží štatisticky preukazne znižovali kmene B1 a 4T, kmeň B1 vysokopreukazne. Vitavax 200 FF redukoval počet chorých rastlín o 20,49 %, Trichonitrin o 47,73 %, 11T o 20,9 % a 4T o 34,94 % (obr. 6).



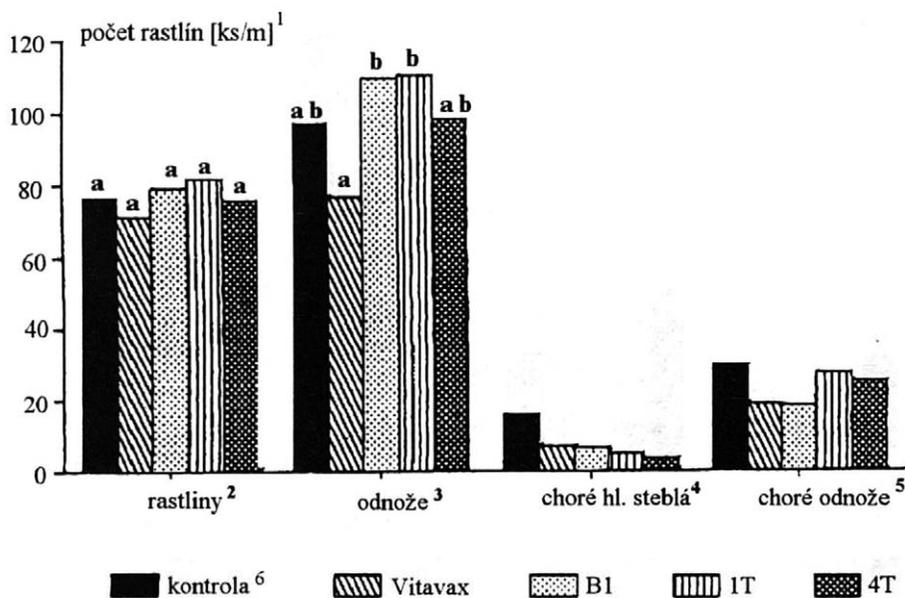
¹diseased plants (%); ²diseased main stems; ³diseased tillers; ⁴disease decline of the main stem; ⁵disease decline of tillers; ⁶control

4. Vplyv ošetrení osiva na zdravotný stav jačmeňa v rastovej fáze odnožovanie – Influence of the seed treatment on health conditions of barley at tillering stage

Plná zrelosť

Na počet hlavných stebiel ani jedno z ošetrení nemalo štatisticky preukazný vplyv. Najnižší počet hlavných stebiel bol v kontrole (62) a najvyšší vo variante ošetrenom fungicídom Vitavax 200 FF (73). Väčšie rozdiely medzi variantami boli zaznamenané v počte odnoží. Najviac odnoží bolo zistených u rastlín ošetrených 4T (84,33), čo je o 29,66 na bežnom metri viac ako v kontrole (obr. 7).

Aplikácie prípravkov Trichonitrin, Vitavax 200 FF a 4T sa odrazili vo vysokopreukazne nižšom počte chorých hlavných stebiel. Najnižší výskyt ochorení bol pozorovaný vo variante ošetrenom 4T (10,34 %). Fungicídna účinnosť prípravku Vitavax 200 FF dosiahla 45,45 %. Biologická účinnosť prípravku Trichonitrin bola stanovená na 44,88 %, mutanta IT na 30,83 % a 4T na 60,6 %. Na zníženie percenta chorých odnoží malo preukazný vplyv len ošetrenie benomyl-rezistentným mutantom 4T. Jednotlivé ošetrenia zni-



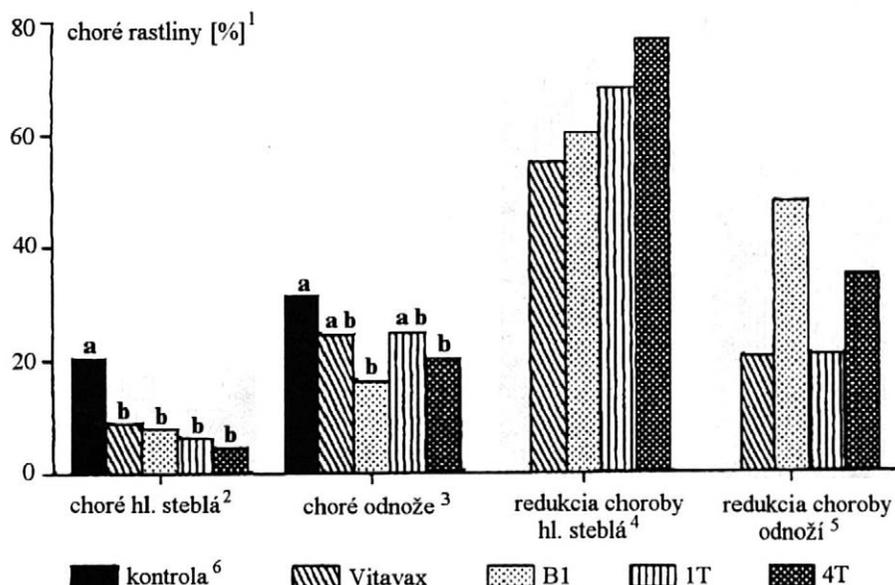
¹ number of plants per m; ² plants; ³ tillers; ⁴ diseased main stems; ⁵ diseased tillers; ⁶ control

5. Vplyv ošetrovania osiva na zdravotný stav jačmeňa v rastovej fáze kvitnutia – Influence of the seed treatment on health conditions of barley at flowering stage

žovali počet chorých odnoží nasledovne: Vitavax 200 FF o 19,46 %, B1 o 34,32 %, 1T o 27,06 % a 4T o 46,26 % (obr. 8).

Zdravotný stav rastlín mal priamy vplyv aj na ďalší úrodovný prvok – počet zŕn v klase. V plnej zrelosti boli najvyššie počty zŕn zaznamenané vo variante ošetrovanom kmeňom B1. V hodnotenej skupine zdravých hlavných stebiel ich počet dosiahol 18,02, chorých hlavných stebiel bol 14,93, zdravých odnoží 16,27 a chorých odnoží 15,79. Najnižšie počty zŕn, okrem skupiny chorých odnoží, boli dosiahnuté v kontrole. Priemerný počet zŕn za všetky varianty v jednotlivých hodnotených skupinách bol takýto: zdravé hlavné stebľa – 18,79, choré hlavné stebľa – 15,79, zdravé odnože – 17,23, choré odnože – 14,13.

Iná tendencia bola zaznamenaná pri hodnotení HTZ. Tento úrodovný prvok dosiahol najvyššie hodnoty pri zdravých hlavných stebľách, zdravých a chorých odnožiach vo variantoch ošetrovaných prípravkom Vitavax 200 FF a v kontrole. Najnižšie HTZ boli zistené pri kmeňoch 1T a 4T.



¹diseased plants (%); ²diseased main stems; ³diseased tillers; ⁴disease decline of the main stem; ⁵disease decline of tillers; ⁶control

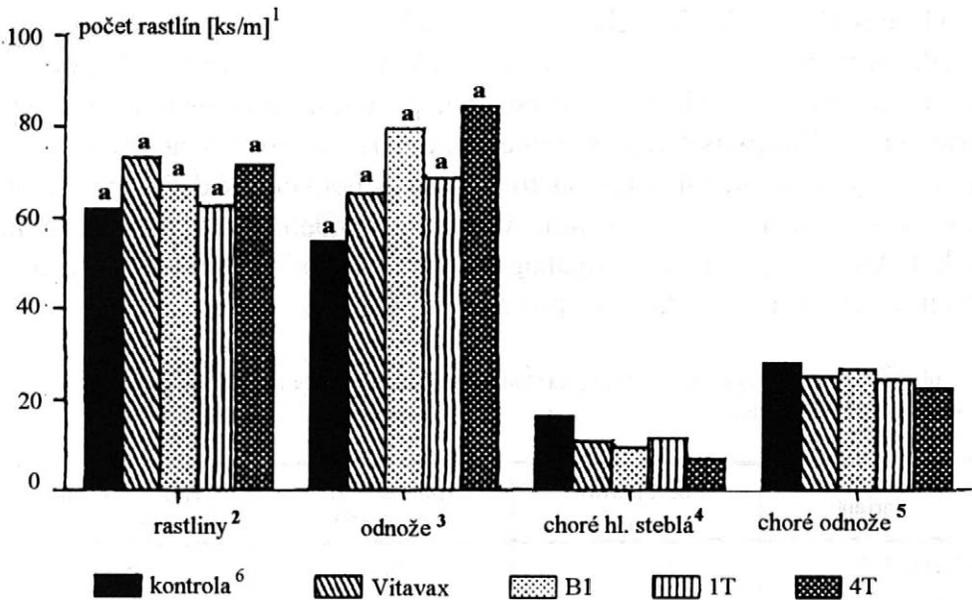
6. Vplyv ošetrovaní osiva na zdravotný stav jačmeňa v rastovej fáze kvitnutie – Influence of the seed treatment on health conditions of barley at flowering stage

Potvrdil sa pozitívny vplyv dobrého zdravotného stavu na výšku HTZ, keď HTZ zdravých stebiel bola približne o 5 g vyššia ako v kategórii ich chorých ekvivalentov.

Tá istá závislosť bola sledovaná aj pri odnožiach. Zrno z chorých odnoží malo HTZ o 4,4 g nižšiu ako z odnoží zdravých. HTZ bola na stebľách v priemere vyššia ako na odnožiach.

Výsledky poukazujú na vysoký bioochranný potenciál testovaných kmeňov *Trichoderma harzianum* proti fuzarióze jačmeňa jarného. Nižšia účinnosť biopreparátov v porovnaní s fungicídnymi prípravkami sa nepotvrdila (Harman et al., 1989). Fungicídna účinnosť známeho moridla Vitavax 200 FF nepresahovala stupeň biologickej ochrany rastlín.

Aplikácia biopreparátu Trichonitrin (kmeň B1) a mutantov *Trichoderma harzianum* 1T a 4T na povrch osiva jačmeňa jarného mala pozitívny vplyv na klíčenie, vzchádzanie a zdravotný stav hodnotených rastlín. K podobným záverom vo svojich pokusoch dospeli aj Ahmad a Baker (1988). Zistili,



¹number of plants per m; ²plants; ³tillers; ⁴diseased main stems; ⁵diseased tillers; ⁶control

7. Vplyv ošetrovnia na zdravotný stav jačmeňa v rastovej fáze plná zrelosť – Influence of the seed treatment on health conditions of barley at full maturity stage

že *Trichoderma harzianum* má, popri klíčení a vzchádzaní, kladný účinok aj na následné vysokopreukazné zvýšenie hmotnosti sušiny jačmeňa jarného.

Biologická aktivita *Trichoderma harzianum* pravdepodobne po prekonaní počiatkových rastových fáz obilnín zvlášť citlivých k infekciám hubami rodu *Fusarium* nekončí. Jej odrazom boli vo väčšine prípadov preukazne nižšie percentá chorých rastlín v porovnaní s neošetrenou kontrolou.

Kľúčovým problémom ochrany jačmeňa jarného sa javí udržanie požadovaného zdravotného stavu odnoží. Hlavné stebľa sú ako fungicidom, tak aj bioprotektantmi chránené dostatočne. Najnižšie percentá chorých odnoží, a to až do rastovej fázy plná zrelosť, boli zaznamenané pri aplikáciách prípravku Trichonitrin a mutanta 4T. Preverenie týchto záverov a reálne vysvetlenie príčin pozorovaného javu si však vyžaduje ďalšie pokusné práce a pozorovania.

Potvrdila sa podmienenosť výšky hodnôt úrodovných prvkov na zdravotnom stave rastlín (Michalíková et al., 1991). Priemerný počet zrn

v klase a HTZ boli vo všetkých variantoch zo zdravých hlavných stebiel a odnoží podstatne vyššie ako z ich chorých ekvivalentov (tab. I). Najvyššie počty zŕn z jedného klasu boli napočítané pri všetkých hodnotených skupinách na rastlinách ošetrovaných biopreparátom Trichonitrin (kmeň B1). Pozitívny vplyv tohto kmeňa na počet zŕn v klase by bolo možné dať do priameho súvisu so silnou stimuláciou rastu v časovom období medzi odnožovaním a kvitnutím. V piatej etape organogenézy sa totiž pri obilninách rozhoduje o budúcom počte zŕn v klase (Š p a l d o n, 1982).

I. Vplyv ošetrovaní osiva jačmeňa jarného na sledované znaky – Influence of the treatment of spring barley on evaluated traits

Variant ¹	Počet klasov ² [ks.m ⁻²]	Hmotnosť zŕn ³ [g.klas ⁻¹]	Hmotnosť zrna [g.m ⁻²]
Kontrola ⁴	942,00	0,61	573,33
Vitavax 200 FF	958,00	0,58	548,33
B1	948,66	0,59	560,00
1T	1 016,33	0,54	553,33
4T	1 013,66	0,57	578,33

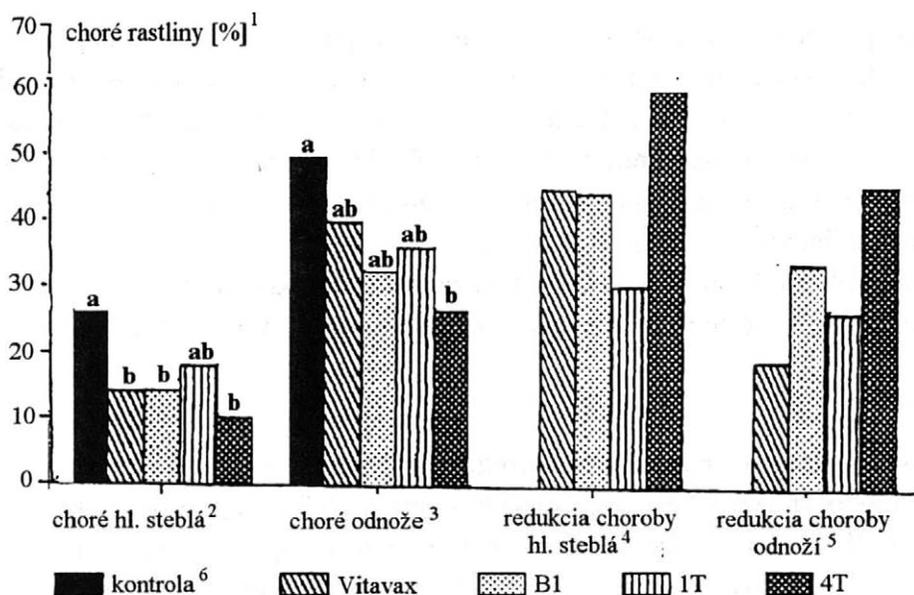
¹variant; ²number of; ³grain weight; ⁴control

Priamy vplyv *Trichoderma* spp. na dosiahnuté úrodovtné prvky potvrdzujú aj Kriviščekova a Miščenko (1990), keď ich preparát Trichodermin zvyšoval úrodu pšenice o 0,2–0,3 t/ha.

Negatívny vplyv fuzárií sa odrazil v znižovaní klíčivosti osiva, poškodzovaní nadzemných a podzemných častí rastlín, rastových depresiách a cievnych vädnutiach (Michalíková, Kulichová, 1988; Šrobárová, 1987).

Najvyššie bioochranné schopnosti, porovnateľné s prípravkom Vitavax 200 FF, si udržali mutanty 1T a 4T. Zhoršenie zdravotného stavu rastlín malo negatívny dopad na všetky sledované ukazovatele. Najhoršie výsledky boli zaznamenané v kontrolnom variante.

Supresivita pôd k fuzáriovým patogénom je komplexom mikrobiálnych vzťahov medzi patogénom a časťou, alebo celou saprofytickou mikroflórou. Pôdna aktivita patogénnych húb rodu *Fusarium* je determinovaná hlavne súťaživosťou o prístupné živiny (Alabouvette, 1990). Tento princíp po-



¹diseased plants (%); ²diseased main stems; ³diseased tillers; ⁴disease decline of the main stem; ⁵disease decline of tillers; ⁶control

8. Vplyv ošetrení na zdravotný stav jačmeňa v rastovej fáze plná zrelosť – Influence of the seed treatment on health conditions of barley at full maturity stage

tvrdili Sivan a Chet (1989), ktorý zistili, že pri nízkych hladinách živín v pôde dochádza k silnej kompetitívnej činnosti, výsledkom ktorej je inhibícia klíčenia spór fuzárií.

Na pôdnej fungistáze k fuzáriám, založenej na potláčaní klíčenia spór a rastu klíčnych hýf, môžu mať svoj podiel aj extracelulárne neprchavé metabolity húb *Trichoderma* spp. (Roháčik, 1991).

Dosiahnutý stupeň biologickej ochrany rastlín pred fuzáriovými patogénmi je spojený aj s vlastnosťou rizosféry kompetencie bioagens. *Trichoderma harzianum* musí mať schopnosť kolonizovať a chrániť hlavne koreňové špičky, t. j. miesta najcitlivejšie k penetráciám hubami rodu *Fusarium* (Sivan et al., 1987; Sivan, Chet, 1989). Minimálne populačné hustoty *Trichoderma* spp. pre indukciu pôdnej supresivity sú 1×10^5 – 10^6 propagúl v g pôdy (Liu, Baker, 1980; Chet, Baker, 1980). Túto požiadavku spĺňajú všetky nami testované kmene *Trichoderma harzianum* na častiach koreňov, ktoré bezpro-

stredne priliehajú k semenám, a na koreňových špičkách. Sú to pravdepodobne miesta s najvyšším stupňom dosiahnutej biologickej ochrany rastlín pred pôdnymi patogénmi. Ak prijme tento predpoklad, potom kmeň B1 najlepšie chráni horné partie koreňov, mutanty 1T a 4T koreňové špičky. Rizosfére kompetentné kmene svojou biologickou aktivitou redukujú v rizosfére populačné hustoty *Fusarium* spp. až o tri rady (Sivan, Chet, 1989). Na koreňových špičkách rajčiakov bola zaznamenaná dokonca úplná eliminácia húb *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* (Sivan et al., 1987).

Záver

Výsledky získané realizáciou metodického postupu poukazujú na perspektívnu možnosť väčšieho využívania alternatívnych foriem v ochrane rastlín. Hlavný dôraz je položený na možnosť potlačenia výskytu fuzáriových ochorení jačmeňa jarného prostredníctvom využitia supresívnych účinkov rôznych kmeňov huby *Trichoderma harzianum*. Základným kmeňom je bioagens tvoriaci hlavnú účinnú zložku biopreparátu Trichonitrin. Je to prirodzený pôdny izolát *Trichoderma harzianum* označený ako kmeň B1, ktorý bol použitý ako rodičovský zdroj chemomutantov *Trichoderma harzianum* 1T a 4T. Aplikácia Trichonitriinu a chemomutantov 1T a 4T na povrch osiva jačmeňa jarného mala pozitívny vplyv na klíčenie, vzchádzanie a zdravotný stav rastlín. Kľúčovým problémom ochrany jačmeňa jarného sa javí udržanie požadovaného zdravotného stavu odnoží. Hlavné steblá sú vo väčšine prípadov ako fungicídmi, tak aj bioprotektantami chránené dostatočne. Všetky tri testované kmene *Trichoderma harzianum* pri jačmeni jarnom vyvolávali silnú stimuláciu rastu nadzemnej a podzemnej časti rastlín. Ani pri jednom z použitých bioagens neboli v žiadnej rastovej fáze pozorované fytotoxické vplyvy na rastliny.

Literatúra

- AHMAD, J. S., BAKER, R. (1988): Implications of rhizosphere competence of *Trichoderma harzianum*. *Can. J. Microbiol.*, 34: 229–234.
- ALABOUVETTE, C. (1990): Biological control of *Fusarium* wilt pathogens in suppressive soils. CAB Int.: 27–43.

- DRIMAL, J. (1987): Možnosti biologickej ochrany kukurice proti fuzarióze koreňov a stebel. In: Sbor. Biologická ochrana rastlin: 18–29.
- HADAR, Y., HARMAN, G. E., TAYLOR, A. G. (1984): Evaluation of *Trichoderma koningii* and *T. harzianum* from New York soils for biological control of seed rot caused by *Pythium* spp. *Phytopathology*, 74: 106–110.
- HARMAN, G. E., TAYLOR, A. G., STASZ, T. E. (1989): Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and soil matrix priming to improve biological see treatments. *Pl. Dis.*, 73: 631–637.
- CHET, I., BAKER, R. (1980): Induction of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopathology*, 70: 994–998.
- KRIVIŠČEKOVÁ, T. G., MIŠČENKO, V. C. (1990): Efektivnosť Trichodermina. *Zašt. Rast.*, 11: 22.
- LIU, S., BAKER, R. (1980): Mechanism of biological control in soil suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 70: 404–412.
- MICHALÍKOVÁ, A a kol. (1991): Redukcia počtu rastlín ozimnej pšenice počas klíčenia a vzhádzania. *Acta fytotechn.*, Nitra, XLVII: 69–79.
- MICHALÍKOVÁ, A., KULICHOVÁ, R. (1988): Vplyv mechanického poškodenia zrna pšenice na napadnutie fytopatogénnou hubou *Fusarium graminearum* SHW. *Poľnohospodárstvo*, 34: 882–891.
- MICHALÍKOVÁ, A., ROHÁČIK, T., KULICHOVÁ, R. (1985): Vplyv fytopatogénnych činiteľov na redukcii počtu rastlín a odnoží pri intenzívnom pestovaní pšenice. [Záverečná správa.] Nitra, ÚBRP VŠP: 102 s.
- MICHALÍKOVÁ, A., ROHÁČIK, T., KULICHOVÁ, R. (1992): Biologická účinnosť húb z rodu *Fusarium* a *Trichoderma* na klíčenie ozimnej pšenice. *Poľnohospodárstvo*, 38: 825–836.
- MICHRINA, J. (1993): Využitie antagonistických kmeňov *Trichoderma harzianum* Rifai v biologickej ochrane obilnín. [Kandidátska dizertácia.] Nitra, VŠP.
- PROKINOVÁ, E. (1987): Huby rodu *Trichoderma*, možnosti a ich využitie v BOR. In: Sbor. Ref. Symp., Nitra: 29–35.
- RICARD, J. (1983): Les collognes de linra Microbial antagonism. Bordeaux, 26–28 Mai: 119–129.
- ROHÁČIK, T. (1991): Pôsobenie metabolitov *Trichoderma* spp. na klíčenie konídií *Fusarium moniliforme*. In: Zbor. XI. Fak. Konf. mladých vedeckých pracovníkov Agronomickej fakulty, Nitra: 7–12.
- SIVAN, A., CHET, I. (1989): The possible role of competition between *T. harzianum* and *F. oxysporum* on rhizosphere colonization. *Phytopathology*, 79: 198–203.
- SIVAN, A., UCKO, O., CHET, I. (1987): Biological control of *Fusarium* crown rot tomato by *Trichoderma harzianum* under field conditions. *Pl. Dis.*, 71: 587–592.

Ochr. Rostl., 33, 1997 (1) : 33–48

SUCHOVÁ, T. (1987): Biometod v zaščiščenom grunte. Zašč. Rast., 2: 37–38.

ŠPALDON, E. (1982): Rastlinná výroba. Bratislava, Príroda: 628 s.

ŠROBÁROVÁ, A. (1987): Vývoj huby *Fusarium culmorum* (W.G.S.M.) SACC na pšenici. Ochr. Rostl., 23: 179–187.

Došlo 3. 10. 1996

Kontaktní adresa:

Prof. Ing. Alla Michalíková, CSc., Slovenská poľnohospodárska univerzita
v Nitre, Katedra ochrany rastlín, A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika
tel.: 00 421 87 511 751, fax: 00 421 87 411 451

ROZTOČI ČELEDI PHYTOSEIIDAE
OPUŠTĚNÉHO JABLOŇOVÉHO SADU A OKOLNÍ VEGETACE

**Phytoseiid Mites of an Abandoned Apple Orchard
and in Surrounding Vegetation**

Jan KABÍČEK

Czech University of Agriculture, Prague, Czech Republic

Abstract: Phytoseiid mites were collected from small (0.7 ha) abandoned apple orchard and adjacent trees and bushes in the region of Central Bohemia. The apple trees were unsprayed for more than 10 years. Five species of the family Phytoseiidae have been found to occur on apple trees (*Euseius finlandicus*, *Dubiniellus echinus*, *Typhlodromus pyri*, *Dubiniellus macropilis*, *Metaseiulus longipilus*) and the additional three species (*Paraseiulus soleiger*, *Typhlodromus tuberculatus*, *Typhlodromus cotoneastri*) on various trees or bushes. The population density of phytoseiid mites on the apple trees fluctuated between 0.06–0.31 mites per leaf. *D. echinus* was the dominant phytoseiid species on the unsprayed apple trees, *E. finlandicus* was more common on the adjacent trees and bushes. The dissimilar occurrence of the dominant phytoseiid species on the apple trees and the adjacent plants have remained different for many years after finishing of spraying in the orchard.

Phytoseiidae; *Euseius finlandicus*; *Dubiniellus echinus*; apple orchard; natural control

Abstrakt: Roztoči čeledi Phytoseiidae byli sbíráni z malého opuštěného jabloňového sadu a přilehlé vegetace. Na jabloních bylo nalezeno pět druhů roztočů z čeledi Phytoseiidae (*Euseius finlandicus*, *Dubiniellus echinus*, *Typhlodromus pyri*, *Dubiniellus macropilis*, *Metaseiulus longipilus*) a další tři druhy (*Paraseiulus soleiger*, *Typhlodromus tuberculatus*, *Typhlodromus cotoneastri*) byly nalezeny na okolní vegetaci. Populační hustota roztočů čeledi Phytoseiidae se pohybovala v rozmezí 0,06–0,31 roztočů na list jabloně. Dominantním druhem na jabloních byl roztoč *D. echinus*, na okolní vegetaci *E. finlandicus*. Odlišné zastoupení dominantních druhů roztočů na jabloních a okolní vegetaci zůstalo rozdílné i řadu let po ukončení chemického ošetřování sadu.

Phytoseiidae; *Euseius finlandicus*; *Dubiniellus echinus*; jabloňový sad; přirozená regulace

Volně rostoucí dřeviny v blízkosti ovocných sadů, ale i dalších agrocenóz, jsou významným zdrojem populací přirozených nepřátel řady členovců, pravidelně nebo příležitostně škodících na kulturních rostlinách. Užitečné druhy přežívající v těchto refugiích se mohou postupně šířit do okolních agrocenóz, kde se může projevit jejich přirozená regulační schopnost zejména v případě výrazného omezení nebo absence používání biocidů. Na šíření populací těchto druhů má značný vliv vagilita a také přítomnost či nepřítomnost bariér.

Rychlost šíření roztočů čeledi Phytoseiidae je ovlivněna různými faktory, např. vzdušnými proudy, vzdáleností, směry vanoucích větrů, teplotou, relativní vzdušnou vlhkostí atd. Po ukončení používání pesticidů mohou být zejména malé sady kolonizovány roztoči z čeledi Phytoseiidae během několika měsíců (Tuovinen, Rokx, 1991).

Z ovocných sadů a okolní vegetace v Holandsku je známo 22 druhů roztočů čeledi Phytoseiidae (Miedema, 1987). Z komerčních sadů s usměrněnou chemickou ochranou proti škůdcům je znám často běžný výskyt dravého roztoče *Typhlodromus pyri* Scheuten, 1857 (Zacharda, 1989). Tento roztoč je již řadu let využíván v rámci biologické ochrany k regulaci výskytu svilušek v sadech a vinicích (Schruft, 1985; Sekita, 1986; Duso, 1989).

Cílené vypouštění dravých roztočů do sadů významně přispívá k rekonstrukci vztahů mezi populacemi fytofágů a dravých roztočů. Opuštěné ovocné sady představují určitou paralelu těchto řízených rekonstrukcí.

Cílem práce bylo zhodnotit výskyt dravých roztočů z čeledi Phytoseiidae v opuštěném jabloňovém sadu a okolní vegetaci.

MATERIÁL A METODY

Roztoči byli sbíráni v opuštěném jabloňovém sadu a okolní vegetaci v Otavovicích ve středních Čechách v roce 1993. Sad o rozloze 0,7 ha byl ze tří stran obklopen volně rostoucími dřevinami. Stáří stromů v sadu bylo odhadnuto na třicet let, tomu odpovídala výška stromů i odrůdová skladba, která nebyla zjišťována. V sadu nebyly více než deset let používány pesticidy. Bylinné patro bylo pravidelně koseno.

Listy z jabloňů i okolních dřevin byly odebírány maximálně do výšky 2,5 m nad zemí. Jeden vzorek tvořilo deset listů. Odběry vzorků z jabloňů byly prováděny od 29. 6. přibližně ve čtrnáctidenních intervalech do 13. 9. Listy každého vzorku byly odebírány náhodně po celém obvodu koruny jabloňů.

Vzorky byly odebírány z 21 jabloní z celkového počtu 120 stromů v sadu. Z okolních dřevin byly 16. 8. odebrány 103 vzorky listů, které byly uloženy do igelitových sáčků a uchovávány v mrazničce při teplotě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ do dalšího zpracování. K separaci roztočů z listů byla použita metoda vytřepání do etylalkoholu (Zacharda et al., 1988). Nalezení roztoči byli montováni do trvalých preparátů (medium Liquido Swan – modifikované prof. Kramářem) a determinováni podle klíčů: Begljarov (1981a, b) a Chant, Yoshida-Shaul (1982, 1987, 1989).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Z jabloňového sadu a okolní vegetace bylo získáno celkem 491 roztočů z čeledi Phytoseiidae patřící osmi druhům (tab. I). Na dřevinách *Betula verrucosa*, *Quercus petraea* a *Sambucus nigra* nebyli roztoči z čeledi Phytoseiidae nalezeni.

I. Roztoči čeledi Phytoseiidae na jabloních a přilehlé vegetaci [%] – Phytoseiid mites on apple trees and in adjacent vegetation [%]

Druh ¹	<i>Malus pumila</i>	Přilehlá vegetace ²
<i>Euseius finlandicus</i>	6,5	68,4
<i>Paraseiulus soleiger</i>	0,0	6,6
<i>Typhlodromus tuberculatus</i>	0,0	5,3
<i>Typhlodromus cotoneastri</i>	0,0	4,0
<i>Typhlodromus pyri</i>	0,2	2,6
<i>Dubiniellus echinus</i>	92,8	11,8
<i>Dubiniellus macropilis</i>	0,2	0,0
<i>Metaseiulus longipilus</i>	0,2	0,0

¹species; ²adjacent vegetation

Na jabloních se vyskytovalo pět druhů dravých roztočů. Společenstva roztočů z čeledi Phytoseiidae v opuštěných sadech a vinicích bývají většinou tvořena 1–5 druhy (Zacharda, 1991). Populační hustota dravých roztočů na jabloních kolísala v průběhu sledovaného období v rozmezí 0,06–0,31 roztoče na jeden list (obr. 1). Regulační účinek dravých roztočů se spolu



¹number of mites per leaf; ²date

1. Populační dynamika Phytoseiidae a Tetranychidae na jabloních – The population dynamics of Phytoseiidae and Tetranychidae on the apple trees

s dalšími predátory, zejména s plošticemi z čeledi Anthocoridae, projevil nízkou populační hustotou svilušek (obr. 1).

K dominantním druhům tvořícím 99,3 % společenstva dravých roztočů na jabloních patřily druhy *Dubiniellus echinus* Wainstein et Arut., 1970 (92,8 %) a *Euseius finlandicus* (Oudemans, 1915) (6,5 %). Na častý výskyt těchto roztočů v opuštěných sadech upozorňuje Zacharda (1991). Oba roztoči se též hojně vyskytovali na okolních dřevinách, ale jejich zastoupení bylo opačné – dominantní byl roztoč *E. finlandicus* (68,4 %). Společným druhem na jabloních a okolní vegetaci byl též jen sporadicky se vyskytující roztoč *Typhlodromus pyri*. Výskyt tohoto roztoče bývá v neošetřených nebo opuštěných sadech minimální (Zacharda, 1991). V chemicky ošetřovaných sadech přežívá tento roztoč často úspěšně, neboť některé jeho populace vyvinuly určitý stupeň rezistence na používané pesticidy (Zacharda, 1991).

Zbývající druhy dravých roztočů byly nalezeny buď jen na jabloních [*Dubiniellus macropilis* (Banks, 1909), *Metaseiulus longipilus* (Nesbitt, 1951)], nebo jen na okolních dřevinách [*Paraseiulus soleiger* (Ribaga, 1902), *Typhlodromus tuberculatus* Wainstein, 1958, *Typhlodromus cotoneastri* Wainstein, 1961] (tab. II).

II. Druhová skladba roztočů čeledi Phytoseiidae přilehlé vegetace – The species diversity of phytoseiid mites of adjacent vegetation

Hostitelská rostlina ¹	Phytoseiidae – druhy ² [%]	Počet listů ³
<i>Acer platanoides</i>	<i>E. finlandicus</i> (27,6), <i>T. tuberculatus</i> (5,3)	80
<i>Betula verrucosa</i>	-----	50
<i>Cerasus avium</i>	<i>E. finlandicus</i> (15,8), <i>P. soleiger</i> (2,6)	180
<i>Crataegus oxyacantha</i>	<i>E. finlandicus</i> (4,0)	130
<i>Ligustrum vulgare</i>	<i>E. finlandicus</i> (2,6), <i>T. pyri</i> (1,3)	80
<i>Prunus spinosa</i>	<i>E. finlandicus</i> (2,6), <i>P. soleiger</i> (4,0), <i>T. pyri</i> (1,3), <i>D. echinus</i> (11,8)	170
<i>Quercus petraea</i>	-----	100
<i>Quercus rubra</i>	<i>T. cotoneastri</i> (2,6)	60
<i>Rosa</i> sp.	<i>T. cotoneastri</i> (1,3)	70
<i>Sambucus nigra</i>	-----	40
<i>Tilia cordata</i>	<i>E. finlandicus</i> (15,8)	70

¹host plant; ²phytoseiid species; ³number of leaves

Z výskytu roztoče *D. echinus* a *E. finlandicus* lze soudit, že zastoupení dominantně se vyskytujících druhů roztočů na jabloních a okolní vegetaci se může vyvíjet odlišně a zůstává rozdílné i řadu let po ukončení používání pesticidů v sadu. V opuštěných sadech probíhá proces rekonstrukce vztahů mezi fytofágy a predátory v závislosti na lokálních podmínkách. Výskyt roztočů čeledi Phytoseiidae na listech různých druhů rostlin je také ovlivňován uspořádáním sít na těle roztočů i různými morfogenetickými strukturami na povrchu listů (Sabelis, Bakker, 1992).

Roztoče *E. finlandicus* lze považovat za euryekní druh, u kterého se větší tolerance v nárocích na okolní prostředí projevuje např. jeho výskytem na širokém spektru hostitelských rostlin nebo šíří jeho potravního spektra. Hustota populace roztoče *E. finlandicus* nemusí být významně ovlivněna přítomností či absencí kořisti, neboť dokáže využívat různé alternativní zdroje potravy (Tuovinen, Rokx, 1991). Tato schopnost mu umožňuje přežít i v podmínkách omezeného výskytu nebo úplného nedostatku kořisti.

Roztoč *D. echinus* se na dřevinách okolní vegetace vyskytoval pouze na *Prunus spinosa*, na zbývajících druzích sledovaných rostlin nebyl nalezen. Sporadický výskyt ostatních nalezených druhů roztočů z čeledi Phytoseiidae ukazuje na jejich menší úlohu v regulaci drobných fytofágních členovců v opuštěném sadu.

L i t e r a t u r a

- BEGJAROV, G. A. (1981a): Opredelitel chiščnych kleščej fitoseiid (Parasitiformes, Phyto-seiidae) fauny SSSR. Infor. Bjull. VPS MOBB, Leningrad, č. 2: 95 s.
- BEGJAROV, G. A. (1981b): Opredelitel chiščnych kleščej fitoseiid (Parasitiformes, Phyto-seiidae) fauny SSSR. Infor. Bjull. VPS MOBB, Leningrad, č. 3: 45 s.
- DUSO, C. (1989): Role of the predatory mites *Amblyseius aberrans* (Oud.), *Typhlodromus pyri* Scheuten and *Amblyseius andersoni* (Chant) (Acari, Phytoseiidae) in vineyards. I. The effect of single or mixed phytoseiid population releases on spider mite densities (Acari, Tetranychidae). *J. Appl. Entomol.*, 107: 474–492.
- CHANT, D. A., YOSHIDA SHAUL, E. (1982): A world review of the soleiger species group in the genus *Typhlodromus* Scheuten (Acarina: Phytoseiidae). *Can. J. Zool.*, 60: 3021–3032.
- CHANT, D. A., YOSHIDA SHAUL, E. (1987): A world review of the pyri species group in the genus *Typhlodromus* Scheuten (Acari: Phytoseiidae). *Can. J. Zool.*, 65: 1770–1804.
- CHANT, D. A., YOSHIDA SHAUL, E. (1989): A world review of the tiliarum species group in the genus *Typhlodromus* Scheuten (Acari: Phytoseiidae). *Can. J. Zool.*, 67: 1006–1046.
- MIEDEMA, E. (1987): Survey of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) in orchards and surrounding vegetation of northwestern Europe, especially in the Netherlands. Keys, descriptions and figures. *Neth. J. Pl. Path.*, 93, Suppl. 2: 1–64.
- SABELIS, M. W., BAKKER, F. M. (1992): How predatory mites cope with the web of their tetranychid prey: a functional view on dorsal chaetotaxy in the Phytoseiidae. *Exp. Appl. Acarol.*, 16: 203–225.
- SEKITA, N. (1986): Toxicity of pesticides commonly used in Japanese apple orchards to the predatory mite *Typhlodromus pyri* Scheuten (Acari: Phytoseiidae) from New Zealand. *Appl. Entomol. Zool.*, 21: 173–175.
- SCHRUF, G. (1985): Grape. In: HELLE, W., SABELIS, M. W. (Eds): *Spider Mites, their Biology, Natural Enemies and Control*, Vol. 1B. Amsterdam, Elsevier: 359–366.

TUOVINEN, T., ROKX, J. A. H. (1991): Phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) on apple trees and in surrounding vegetation in southern Finland. Densities and species composition. *Exp. Appl. Acarol.*, 12: 35–46.

ZACHARDA, M. (1989): Seasonal history of *Typhlodromus pyri* (Acari: Mesostigmata: Phytoseiidae) in a commercial apple orchard in Czechoslovakia. *Exp. Appl. Acarol.*, 6: 307–325.

ZACHARDA, M. (1991): *Typhlodromus pyri* Scheuten, 1857 (Acari: Phytoseiidae), a unique predator for biological control of phytophagous mites in Czechoslovakia. In: DUSBÁBEK, F., BUKVA, V. (Eds): *Modern Acarology*. Vol. 1. The Hague – Prague, Academia – SPB Academic Publ.: 205–210.

ZACHARDA, M., PULTAR, O., MUŠKA, J. (1988): Washing technique for monitoring mites in apple orchards. *Exp. Appl. Acarol.*, 5: 181–183.

Došlo 10. 10. 1996

Kontaktní adresa:

RNDr. Jan K a b í ě k, CSc., Česká zemědělská univerzita, Katedra ochrany rostlin
165 21 Praha 6-Suchbát, Česká republika
tel.: 00 420 2 2438 2682, fax: 00 420 2 393 703

**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 nadeřinování 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 řešeršní 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).

REZISTENCE POTEMNÍKŮ *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) VŮČI INSEKTICIDŮM V ČESKÉ REPUBLICE

Insecticide Resistance in Red Flour Beetle, *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) in the Czech Republic

Petr WERNER

*Research Institute of Crop Production – Division of Plant Medicine,
Prague, Czech Republic*

Abstract: Field strains of *Tribolium castaneum* (Herbst) (8 strains), collected from various storages, bakeries and flour mills in the Czech Republic, were surveyed for resistance to malathion, pirimiphos-methyl, fenitrothion and chlorpyrifos-methyl. Low-level resistance to four tested organophosphates was found in almost all field strains (resistance factor > 2). The highest resistance observed was the response to pirimiphos-methyl (resistance factor 5 to 23), which is well corresponding with a frequent and long-term usage of pirimiphos-methyl in the Czech Republic. The highest susceptibility was found to chlorpyrifos-methyl. Insecticide containing chlorpyrifos-methyl are only used within a few recent years in the Czech Republic. The results of this study have shown that low-level resistance to various organophosphates, especially to pirimiphos-methyl, is present and widespread in the field populations of *T. castaneum* in the Czech Republic. The results have also shown that cross-resistance can seriously complicate chemical control.

Tribolium castaneum; stored-product pests; resistance; Czech Republic

Abstrakt: Byla zjišťována rezistence terénních populací potemníka hnědého *Tribolium castaneum* (Herbst) vůči různým organofosfátům (pirimiphos-methyl, fenitrothion, malathion, chlorpyrifos-methyl). Nízká úroveň rezistence (faktor rezistence větší než 2) byla zjištěna téměř u všech terénních populací. Nejvyšší hladina rezistence (faktor rezistence v rozmezí 5 až 23) byla pozorována u pirimiphos-methyl. To je pravděpodobně způsobeno častým a dlouhodobým užíváním insekticidních přípravků s účinnou látkou pirimiphos-methyl v České republice. Naproti tomu nejnižší úroveň rezistence byla pozorována u účinné látky chlorpyrifos-methyl, přičemž insekticidní přípravky s touto látkou jsou v České republice používány proti skladištním škůdcům (v porovnání s pirimiphos-methyl) mnohem

kratší dobu a podstatně méně často. Výsledky ukazují na to, že v České republice je rezistence (přinejmenším na nízké úrovni) potemníků *T. castaneum* vůči běžným organofosfátům značně rozšířená. Rezistenci skladištních škůdců vůči insekticidům je třeba věnovat dostatečnou pozornost, protože tento jev může výrazně komplikovat chemickou ochranu.

Tribolium castaneum; skladištní škůdci; rezistence; Česká republika

Rezistence škůdců vůči insekticidům je vážným problémem, který komplikuje ochranu proti nim. Na celém světě byla rezistence zaznamenána u více než 500 druhů škůdců (Georghiou, 1990) a počet zjištěných případů každým rokem prudce stoupá. Znalost aktuální úrovně rezistence je nezbytným předpokladem pro úspěšné a správné používání jakéhokoliv insekticidu (Denholm, Rowland, 1992). Problematice rezistence je ve světě oprávněně věnována vysoká pozornost a monitorování úrovně rezistence bylo předmětem mnoha výzkumných projektů. Rezistence byla opakovaně zaregistrována také u několika desítek skladištních škůdců (Badmin, 1991). Potemník hnědý *Tribolium castaneum* (Herbst) je jedním z nejhojnějších, celosvětově rozšířených skladištních škůdců. Zjišťování a monitorování rezistence *T. castaneum* vůči různým insekticidům prováděli četní autoři v mnoha zemích (Collins, Wilson, 1986; Haliscak, Beeman, 1983; Zettler, Cuperus, 1990). Opakovaně byla také u tohoto druhu zaregistrována křížová rezistence (Halliday et al., 1988; Pacheco et al., 1991; Zettler, 1991). V této studii jsou prezentovány výsledky zjišťování rezistence *T. castaneum* vůči různým organofosfátovým insekticidům u populací pocházejících z území České republiky.

MATERIÁL A METODY

Rezistenci lze zjišťovat několika základními technikami. Nejstarší klasickou metodou je testování biologického účinku řady vhodně vybraných koncentrací účinné látky (tzv. dose-response test). Kladem této metody je její instrumentální nenáročnost, což byl hlavní důvod, pro její použití v této práci. V zásadě byla použita modifikovaná metodika FAO (Anonymous, 1974). Jednotlivé terénní populace potemníka *T. castaneum* byly získávány v různých potravinářských skladech a provozech v letech 1993–1994. Jako citlivý

kmen byl použit v laboratorních podmínkách dlouhodobě chovaný kmen *T. castaneum* (VÚRV 3). Všechny kmeny byly chovány v termostatu (teplota 27 °C, tma) v Petriho miskách s potravním substrátem (směs prosátého pšeničného šrotu a sušených pivovarských kvasnic v poměru 10 : 1). Z těchto chovů byly získávány kukly, které byly dochovány do stadia dospělců odděleně od ostatních vývojových stadií, ale stejným způsobem. K pokusům byli používáni nesexovaní dospělci stáří 20–30 dní (citlivost dospělců vůči insekticidům se mění podle jejich stáří). Testování většinou proběhlo na dospělci F₃ generace.

Rezistence byla zjišťována vůči organofosfátovým insekticidům se čtyřmi účinnými látkami (fenitrothion, chlorpyrifos-methyl, malathion a pirimifos-methyl). V testech byly použity čisté účinné látky (analytické standardy) ve směsi s medicínálním slunečnicovým olejem jako s netěkavým nosičem a s acetonem a hexanem jako s těkavým nosičem (8 ml slunečnicového oleje s příslušnou dávkou účinné látky doplněno do 50 ml směsi acetonu a hexanu 1 : 3). Tato směs byla rovnoměrně nanášena pipetou (vždy stejné množství 1 ml) na kotouče filtračního papíru o průměru 9 cm (Filtrak GmbH, typ 390). Za 1 hodinu po ošetření byly kotouče filtračního papíru vloženy těsně do Petriho misek (aby se vysazení testovací jedinci potěmek nemohli dostat mimo ošetřenou plochu). Do každé misky bylo bezprostředně poté vysazeno 50 dospělců určitého kmene *T. castaneum* a misky byly umístěny do termostatu (teplota 27 °C, tma). Odečet mortality byl prováděn po 24 hodinách, do mortality byli zahrnuti vedle uhynulých nebo zcela nepohyblivých jedinců také všichni jedinci v tremoru a s výrazně pozmeněnou pohyblivostí. Pro každou koncentraci byly provedeny nejméně tři opakování, u každé účinné látky byly testovány nejméně čtyři různé koncentrace. Ze zjištěných dat byly vypočteny hodnoty LC₅₀ a následně faktory rezistence (poměr LC₅₀ citlivého kmene a testovaného terénního kmene). Ke kontrole byla použita stejná metoda s tím, že směs látek nanášená na filtrační papír neobsahovala žádný insekticid.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky jsou shrnuty v tab. I. Rezistence terénních populací *T. castaneum* vůči účinné látce chlorpyrifos-methyl byla nízká, faktor rezistence pro jednotlivé terénní kmeny se pohyboval v rozmezí 1,2 až 4,8 (celkový průměr pro

I. Toxicita čtyř účinných látek organofosfátových insekticidů pro různé kmeny *Tribolium castaneum* (expozice 24 h na ošetřeném filtračním papíru) – Toxicity of four organophosphates to various strains of *Tribolium castaneum* (24 h exposure to insecticide-impregnated filter paper)

Kmen ¹	LC ₅₀ [mg a.i./m ²]	Směrnice přímký ²	Faktor rezistence ³
chlorpyrifos-methyl			
Laboratoř VÚRV	2,7	3,36	(1,0)
Prostějov	13,1	3,81	4,8
Teplice	5,8	4,84	2,1
Třebíč	7,4	2,69	2,7
Roudnice 1	4,5	1,97	1,6
Roudnice 2	3,4	2,13	1,2
Praha	9,3	2,84	3,4
Údrnice	10,2	3,23	3,8
Hořany	8,8	3,54	3,2
malathion			
Laboratoř VÚRV	6,7	4,56	(1,0)
Prostějov	50,6	2,06	7,5
Teplice	13,6	4,78	2,0
Třebíč	10,2	3,93	1,5
Roudnice 1	13,4	2,53	2,0
Roudnice 2	21,4	2,92	3,2
Praha	22,6	2,93	3,4
Údrnice	20,0	3,27	3,0
Hořany	16,8	3,11	2,5
fenitrothion			
Laboratoř VÚRV	1,9	3,33	(1,0)
Prostějov	16,8	3,51	8,8
Teplice	6,4	3,16	3,3
Třebíč	8,8	1,66	4,6
Roudnice 1	4,5	1,46	2,3
Roudnice 2	7,2	1,61	3,8
Praha	7,8	2,10	4,1
Údrnice	9,6	2,20	5,0
Hořany	7,8	2,76	4,1

Pokr. tab. I – Table I to be continued

Kmen ¹	LC ₅₀ [mg a.i./m ²]	Směrnice přímky ²	Faktor rezistence ³
pirimiphos- methyl			
Laboratoř VÚRV	1,3	2,48	(1,0)
Prostějov	29,4	1,52	23,1
Teplice	6,2	2,14	4,9
Třebíč	6,1	1,92	4,8
Roudnice 1	6,4	1,58	5,0
Roudnice 2	15,5	1,15	12,
Praha	8,0	2,57	6,3
Údrnice	19,8	1,67	15,5
Hořany	8,8	1,23	6,9

¹strain; ²slope; ³resistance ratio

účinnou látku malathion, faktor rezistence byl v rozmezí 1,5 až 7,5 (průměr 3,14). O něco vyšší hodnoty rezistence byly zjištěny u fenitrothionu, kde se faktor rezistence terénních populací *T. castaneum* pohyboval v rozmezí 2,3 až 8,8 (průměr 4,5). Nejvyšší úroveň rezistence ze čtyř testovaných organofosfátů byla zjištěna pro pirimiphos-methyl. Pro tuto účinnou látku se pohyboval faktor rezistence jednotlivých terénních kmenů v rozmezí 4,8 až 23,0 (průměr 9,8).

I když počet testovaných terénních populací *T. castaneum* není vysoký a při hodnocení výsledků je třeba tuto skutečnost zvážit, přesto lze považovat získané výsledky za zajímavé. Byla potvrzena dobrá shoda mezi úrovní rezistence a délkou používání příslušného insekticidu pro chemickou ochranu. Nejvyšší úroveň rezistence byla zjištěna u účinné látky pirimiphos-methyl. Různě formulované přípravky řady Actellic (obsahující jako účinnou látku pirimiphos-methyl) jsou v ČR dlouhodobě a často používány v chemické ochraně proti skladištním škůdcům. Nadměrné užívání, navíc často spojené s nesprávnou taktikou (žádné, omezené nebo nevhodné střídání přípravků), zřejmě vedlo k propagaci rezistence. U terénní populace s nejvyšší úrovní rezistence (kmen Prostějov) bylo zaznamenáno selhání běžného dezinfekčního zásahu přípravkem Actellic, prováděného podle schváleného technologického postupu doporučenou dávkou.

Pokud se týká účinné látky chlorpyrifos-methyl, úroveň rezistence je nejnižší ze všech čtyř testovaných insekticidních látek. To pravděpodobně souvisí s tím, že insekticidní přípravky obsahující chlorpyrifos-methyl jako účinnou látku jsou v ČR v chemické ochraně proti skladištním škůdcům používány relativně kratší dobu a méně často (ve srovnání s pirimiphos-methylem).

Insekticidní přípravky s účinnou látkou malathion nebyly v ČR nikdy v chemické ochraně proti skladištním škůdcům používány, přesto byla u terénních populací *T. castaneum* zjištěna v porovnání s laboratorním, citlivým kmenem slabě zvýšená rezistence vůči této látce. Zda se jedná o malathion-specifický či malathion-nespecifický typ rezistence, není jisté. Mírně zvýšená úroveň rezistence vůči účinné látce malathion může být způsobena buď introdukcí rezistentních populací *T. castaneum* ze zahraničí, kde je v důsledku masivního a dlouhodobého užívání této látky rezistence značně rozšířená a někdy i velmi vysoká (např. B a d m i n, 1991), anebo se může jednat i o projev malathion-nespecifické, skupinové rezistence vůči organofosfátovým insekticidům.

Z prvních výsledků získaných sledováním rezistence významného skladištního škůdce potměníka hnědého *T. castaneum* vůči insekticidům vyplývá především nutnost dalšího zjišťování, případně i dlouhodobého plošného monitorování úrovně rezistence skladištních škůdců. Efektivní použitelnost insekticidních přípravků vůči jednotlivým škodlivým činitelům je kromě některých dalších faktorů také závislá na míře rezistence škůdců vůči příslušným účinným látkám. Při užívání přípravků řady Actellic vůči potměníku hnědému *T. castaneum* lze doporučit provádění důsledné kontroly účinnosti ošetření, protože zvýšená úroveň rezistence tohoto škůdce by mohla způsobit selhání dezinsekčního zásahu. Je nutné počítat s tím, že perioda efektivní použitelnosti insekticidních přípravků řady Actellic vůči potměníku hnědému *T. castaneum* se může blížit ke svému konci a tyto přípravky bude nezbytné nahradit jinými. Z výsledků také vyplývá, že dobrou náhradou, alespoň pokud se týká skupiny organofosfátových insekticidů, by mohly být přípravky obsahující jako účinnou látku chlorpyrifos-methyl.

L i t e r a t u r a

ANONYMOUS (1981): Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides. Tentative method for adults of some major

beetle pests of stored cereals with malathion or lindan. FAO method no. 15. FAO Plant Protect. Bull., 22: 127–137.

BADMIN, J. S. (1991): IRAC survey of resistance of stored grain pests: results and progress. In: Proc. 5th Int. Working Conf. Stored Product Protect., Bordeaux 1990: 973–981.

COLLINS, P. J., WILSON, D. (1986): Insecticide resistance in the major coleopteran pests of stored grain in southern Queensland. Queensland J. Agric. Anim. Sci., 43: 107–114.

DENHOLM, I., ROWLAND, M. W. (1992): Tactics for managing pesticide resistance in arthropods – Theory and practice. Annu. Rev. Entomol., 37: 91–112.

GEORGHIOU, G. P. (1990): Overview of insecticide resistance. In: GREEN, M. B. et al. (Eds.): Managing Resistance to Agrochemicals: from Fundamentals Research to Practical Strategies. Washington, D.C.: 18–41.

HALISCAK, J. P., BEEMAN, R. W. (1983): Status of malathion resistance in five genera of beetles infesting farm-stored corn, wheat, and oats in the United States. J. Econ. Entomol., 76: 717–722.

HALLIDAY, W. R., ARTHUR, F. H., ZETTLER, J. L. (1988): Resistance status of red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae) infesting stored peanuts in the South-eastern United States. J. Econ. Entomol., 81: 74–77.

PACHECO, I. A., SARTORI, M. R., BOLONHEZI, S. (1991): Resistance to malathion, pirimiphos-methyl and fenitrothion in Coleoptera from stored grains. In: Proc. 5th Int. Working Conf. Stored Product Protect., Bordeaux 1990: 1029–1037.

ZETTLER, J. L., CUPERUS, G. W. (1990): Pesticide resistance in *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) in wheat. J. Econ. Entomol., 83: 1677–1681.

ZETTLER, J. L. (1991): Pesticide resistance in *Tribolium castaneum* and *T. confusum* (Coleoptera, Tenebrionidae) from flour mills in the United States. J. Econ. Entomol., 84: 763–767.

Došlo 24. 1. 1997

Kontakní adresa:

RNDr. Petr Werner, Výzkumný ústav rostlinné výroby, odbor rostlinolékařství
161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika
tel.: 00 420 2 360851, fax: 00 420 2 365228

Studijní informace 1997

řada Rostlinná výroba

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

Sehno L.: Bilance základních živin v ekologickém zemědělství	40 Kč
Klír J.: Setrvalé zemědělství	40 Kč
Šimon J.: Zemědělství v marginálních oblastech	40 Kč
Píkula J.: Bojujeme proti plevelům	40 Kč
Flohrová A.: Vápník a jeho význam pro půdu a rostliny	35 Kč
Blechto vá A.: Význam organické hmoty v půdě	40 Kč
Míkula P.: Pěstování brambor	40 Kč

Uvedené publikace si můžete objednat na adrese:

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

KRÁTKÁ SDĚLENÍ

MAPOVANIE VÝSKYTU RIZOMÁNIE NA SLOVENSKU V JESENI ROKU 1995*

Marta AZOROVÁ

*Institute of Experimental Phytopathology and Entomology,
Ivanka pri Dunaji, Slovak Republic*

Rizománia patrí k najzávažnejším ochoreniam cukrovej repy. Charakteristickými príznakmi sú: nadmerná tvorba vláskových korieňkov hlavne v koreňových ryhách, menšie tzv. bradaté repy, zhnednuté cievné zväzky. Vzhľadom na ekonomický význam tohto ochorenia (Bojňanský, Šubíková, 1991) je potrebné ho správne a včas diagnostikovať, zmapovať postihnuté lokality a urobiť preventívne opatrenia.

Pôvodcom rizománie je vírus žltej nekrotickej žilkovitosti repy (BNYVV – beet necrotic yellow vein virus). Prenášačom BNYVV je huba *Polymyxa betae* z čeľade Plasmodiophoraceae, ktorá je parazitom na koreňoch cukrovej repy.

Metódy na diagnostikovanie vírusu spôsobujúceho rizomániu sú rôzne. Od mikroskopickej až po citlivé sérologické metódy, z ktorých najcitlivejšou je metóda ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay (Clark, Adams, 1977). ELISA test je výhodnou a citlivou metódou na stanovenie koncentrácie vírusu v cukrovej repe ako aj v indikátorových (vírusom napadnutých) rastlinách. ELISA test sa použil aj v predkladaných prácach, ktorej cieľom bolo zmapovať rizomániu postihnuté lokality na Slovensku v jeseni 1995. Práca rozširuje dosiaľ získané poznatky v tejto problematike (Šubíková et al., 1992; Šubíková, 1993, 1994, 1995) o nové, rizomániu postihnuté lokality.

Prirodzene infikované buľvy cukrovej repy sa získali z viac ako 60 lokalít Slovenska (vo väčšine prípadov ich poskytol ÚKSUP). Tieto vzorky sa testovali v niekoľkých sériách ELISA-testov (tab. I). Vzorky boli celkovo vyhodnotené ako vysoko pozitívne ($A > 1,3$), stredne pozitívne ($0,5 < A < 1,3$), pozitívne ($0,1 < A < 0,3$) a negatívne ($A < 0,1$).

Z výsledkov je zrejmé, že ochorenie cukrovej repy – rizománia – je značne rozšírené takmer vo všetkých oblastiach pestovania cukrovej repy. V predloženej práci použitý imunoenzymatický test umožnil kvantitatívne určiť zamorenosť testovaných území. Lokality vyhodnotené ako vysoko a stredne pozitívne na výskyt žltej nekrotickej

* Práca vznikla v rámci projektu VGA č. 2/1010/96..

I. Výskyt vírusu BNYVV v koreňoch cukrovej repy testovaný metódou ELISA

Číslo vzorky ¹	Okres ²	Obec ³	Odroda ⁴	ELISA I I/100*	ELISA I I/50*	ELISA II I/100	ELISA III I/100	Celkové hodnotenie ⁵
1	BH	Nový Život	Intera	1,3305	2,3150	1,4560		+++
2	BH	Blatné	Hilma	0,1210	0,1970	0,2050	0,1000	+
3	BH	Vysoká pri Morave, 1	Intera	0,2050	0,1180	0,1600	0,1300	+
4	BH	Vysoká pri Morave, 2	Intera	0,1270				+
5	BH	Lehnice	Matador	0,1500	0,2240	0,1420	0,0980	+
6	DS	Nový Trh	Formula	0,0250	0,0485			-
7	DS	Štvrtok na Ostrove	Kristal	0,1030	0,1590		0,3600	+
8	DS	zdravá repa	Intera	0,0020	0,0040			-
9	DS	Mad – 1. skládka			0,8180	1,2520	0,8000	++
10	DS	Mad – 2. skládka			1,0930	0,7850	0,5000	++
11	GA	Hody	Matador	0,0970	0,0380		0,0200	-
12	GA	Veľké Úľany	Matador	0,0970	0,2890		0,2440	+
13	KN	Zlatná	Kristal	0,0095	0,0555			-
14	KN	Lél	Rizor	0,0860	0,0060		0,0800	-
15	KN	Sokolce	Polyna	0,7640	0,7470	0,6500	0,6900	++
16	KN	Sokolce	Formula	0,0957	0,2260		0,1900	+
17	LC	skládka	Kalonda	0,0075	0,0275	0,0005		-
18	LC	Fil'akovské Kováče	Ibis	0,1020	0,1200			+

Pokr. tab. I – Table I to be continued

Číslo vzorky ¹	Okres ²	Obec ³	Odroda ⁴	ELISA I I/100*	ELISA I I/50*	ELISA II I/100	ELISA III I/100	Celkové hodnotenie ⁵
19	LC	Veľké Dravce	Matador	0,3640	0,2920	0,3000	0,5000	+
20	LV	Šahy	Lemona	0,0250	0,0665			-
21	LV	Málaš	Remona	0,1060	0,1410	0,2200	0,1000	+
22	NZ	Ružomerský Dvor	Suprafort	0,0425	0,0695	0,0265		-
23	RS	Veľký Teriak	Intera–upr.	0,0550	0,0800			-
24	RS	Bátka	Intera/Ibis	0,5300	1,4550	0,6300		+++
25	RS	Bátka	Intera	0,0945	0,1940	0,1500		+
26	RS	Gemer	Matador	0,0215	0,0575			-
27	RS	Chrámec	Polyna	0,0050	0,0240	0,0185		-
28	RS	Jesenské	Ibis	0,1840				+
29	RS	Abovce – Kráľ, 1	Matador	0,1680	0,3000	0,3600	0,2100	+
30	RS	Abovce – Kráľ, 2	Matador	0,2016				+
31	RS	Abovce – Kráľ, 3	Matador	0,0890	0,0210		0,0180	-
32	RS	Nižný Skálnik	Intera	0,1440	0,2410	0,1710		+
33	RS	Ožďany	Intera	0,0970	0,0240		0,0100	-
34	RS	Bátka	Intera	0,4520	0,5010	0,5000	0,7500	+
35	RS	Bátka	Adonis	0,1470	0,2950	0,2900	0,3100	+
36	RS	Večelkov	Erika	0,0660	0,0620	0,0650	0,0060	-

Pokr. tab. I – Table I to be continued

Číslo vzorky ¹	Okres ²	Obec ³	Odroda ⁴	ELISA I I/100*	ELISA I I/50*	ELISA II I/100	ELISA III I/100	Celkové hodnotenie ⁵
37	SE	Radošovce	Intera	0,0045	0,0310	0,0650		-
38	SE	Radošovce	Oryx	0,5300	0,4510	0,5550		++
39	SE	Rybky	Intera	0,0260	0,0745	0,0380		-
40	SE	Podluža – O.	Intera	0,2220	0,0700	0,2400	0,1000	+
41	SE	Petrova Ves – L	Matador	0,1230	0,0250		0,0400	-
42	SE	Cerová	Matador	0,0890	0,0380		0,0600	-
43	SE	Gbely	Matador	0,0930	0,0650		0,0200	-
44	SE	Jablonica	Zenit/Gala	0,1960	0,1160		0,1000	+
45	SE	Smolinské	Dunja	0,0820	0,0980	0,0370	0,0150	-
46	TN	Pobedim	Cyrano	0,5595	1,0270	1,1990		++
47	TN	Podolie	Ibis	0,255	0,1105			+
48	TN	Podolie	Matador	0,6950	0,5040	0,5090		++
49	TN	Dolné Srnie	Matador	0,1420	0,1200	0,3000	0,2050	+
50	TN	Melčice	Intera	0,0380	0,0410	0,0200	0,0400	-
51	TN	Pobedim	KW-Irma	0,1700	0,1802	0,1890	0,1050	+
52	TN	Trenčianska Turná – 1	Ibis	0,2120	0,1010	0,1040	0,1900	+
53	TN	Trenčianska Turná – 2	Ibis	1,1490		0,9850	0,9990	++
54	TN	Trenčianska Turná – 3	Ibis	0,1790	0,2220		0,1500	+

Pokr. tab. I – Table I to be continued

Číslo vzorky ¹	Okres ²	Obec ³	Odroda ⁴	ELISA I I/100*	ELISA I I/50*	ELISA II I/100	ELISA III I/100	Celkové hodnotenie ⁵
55	TN	Moravské Lieskové	Zenit	0,0680	0,0700		0,0900	-
56	TO	Klatovská Nová Ves	Intera	0,0760		0,0150		-
57	TT	Piešťany	Imona	0,1880	0,1860		0,1300	+
58	TV	Veľký Horeš	Intera	0,0330	0,1380			-
59	VK	Kiar		1,3300				+++
60	VK	Opatovská Nová Ves	Suprafort	0,1580		0,3050		+
61	BK	Slovenské Ďarmoty	Suprafort	0,6950	1,1130			++
62	VnT	Dlhé Klčovo	Intera	0,3500	0,1195			+
63	VnT	Dlhé Klčovo	Intera	0,2500	0,1080			+
64	VV	Dlhé Klčovo	zmes	0,2390		0,2350		+
65		zdravá repa	Intera	0,0820	0,0207			-

+++ vysoko pozitívna reakcia $A > 1,3$
 ++ stredno pozitívna reakcia $0,5 < A < 1,3$
 + pozitívna reakcia $0,1 < A < 0,5$
 - negatívna reakcia $A < 0,1$

* I/100, I/50: riedenie protilátok

ELISA I-III – štandardná ELISA metóda

žilkovitosti repy, možno považovať za ohniská ďalšieho možného šírenia ochorenia. Najviac postihnutými lokalitami boli: Nový Život (okres Bratislava-vidiek), Mad (okres Dunajská Streda), Sokolce (okres Komárno), Bátka (okres Rimavská Sobota), Radošovce (okres Senica), Pobeďim, Podolie, Trenčianska Turná (okres Trenčín), Kiar a Slovenské Ďarmoty (okres Veľký Krtíš). Tieto výsledky, oproti doposiaľ publikovaným poznatkom, podávajú dôkaz o nových rizomániou zamorených lokalitách na Slovensku. Sú to lokality v okresoch Rimavská Sobota, Senica a Veľký Krtíš. Najvyššia absorbancia vírusu v prirodzene infikovaných repách sa zistila u odrôd Intera, Polyna, Suprafort, Oryx, Cyrano, Matador a Ibis, ktoré treba považovať za citlivé k špecifickému kmeňu vírusu žltej nekrotickej žilkovitosti repy v tej-ktorej lokalite. Preto v zamorených oblastiach by bolo potrebné použiť iné, k špecifickému kmeňu vírusu (resp. k biotypu huby *Polymyxa betae*) tolerantné odrody.

L i t e r a t ú r a

- BOJŇANSKÝ, V., ŠUBÍKOVÁ, V. (1991): Rizománia repy a jej hrozba repárstvu a cukrovarníctvu. Veda a prax, ÚEFE SAV Ivanka pri Dunaji 2/1: 1–56.
- CLARK, H. F., ADAMS, A. N. (1977): Characteristics of the microplate method of enzyme linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. gen. Virol., 34: 475–483.
- ŠUBÍKOVÁ, V., BOJŇANSKÝ, V., BAUMGARTNEROVÁ, H. (1992): Výskyt vírusu žltej nekrotickej žilkovitosti repy na Slovensku. Ochr. Rostl., 28: 115–121.
- ŠUBÍKOVÁ, V. (1993): Výskyt rizománia cukrovej repy na Slovensku. Listy cukrov. řepář., 109: 122–125.
- ŠUBÍKOVÁ, V. (1994): Selekcija odrôd cukrovej repy na toleranciu k vírusu spôsobujúceho rizománia cukrovej repy. Listy cukrov. řepář., 110: 163–164.
- ŠUBÍKOVÁ, V. (1995): Dôkaz pôdneho vírusu na Slovensku. Listy cukrov. řepář., 111: 212–213.

Došlo 11. 9. 1996

Mapping the Occurrence of Rhizomania during Autumn of 1995 in Slovakia

Rhizomania, one of the most serious diseases of sugar beet, is caused by beet necrotic yellow vein virus (BNYVV), whose vector is the soilborn fungus *Polymyxa betae*. The disease has been reported from many European and overseas countries. In Slovakia, rhizomania was reported for the first time in 1991 (Bojňanský, Šubíková, 1991), and in 1992 it was observed in 23 localities (Šubíková et al., 1992).

The next observations from Slovakia were described in scientific articles in 1993, 1994 and 1995 (Šubíková, 1993, 1994, 1995). During autumn of 1995 more than 60 samples from many localities of Slovakia were collected and tested by serological ELISA tests. The results are summarized in Table I, and they report three new localities of rhizomania occurrence in Slovakia. These are in the districts of Rimavská Sobota, Senica and Veľký Krtíš. The majority of test samples were positive. Thus, we can state that rhizomania is still expanding in Slovakia

Contact address:

Mgr. Marta Azorová, Ústav experimentálnej fytopatológie a entomológie.
Nádražná 52, 900 28 Ivanka pri Dunaji, Slovenská republika.
tel.: 00 421 07 943 532, fax: 00 421 07 943 431, e-mail: zorex@uefe.savba.sk

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 oblastí 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 poštovního), 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

AKTUALITY

Současný pokrok ve výzkumu diagnostiky a identifikace rostlinných virů prezentovaný na 4. mezinárodním sympoziu EFPP v Bonnu

Ve dnech 9.–12. září 1996 se v Bonnu (SRN) konalo 4. mezinárodní sympozium Evropské nadace pro patologii rostlin, nazvaném Diagnostika a identifikace rostlinných patogenů. Konferenci Evropské fytopatologické společnosti organizoval Ústav chorob rostlin Rýnské univerzity Fridricha-Viléma vedený prof. dr. H. W. Dehne. Evropské konference se zúčastnil i předseda České fytopatologické společnosti prof. Ing. V. Táborský, CSc., její sekretář Ing. J. Polák, DrSc., a devět českých fytopatologů, členů ČFS. V oficiálním seznamu je uváděno 255 účastníků ze 23 států Evropy a jednotliví účastníci z fytopatologických společností všech světadílů.

Jednání konference bylo rozděleno do těchto sekcí: všeobecné aspekty, taxonomie a diferenciacie, sérologické analýzy I a II, techniky založené na hybridizaci nukleové kyseliny I a II, stanovení a kvantifikace onemocnění, prognóza onemocnění a expertní systémy. Postery byly prezentovány v blocích se stejným označením jako sekce přednášek (kromě 1. tématu).

Organizátorům se podařilo připravit konferenci špičkové úrovně se silným zastoupením sérodiagnostiky fytopatogenních bakterií a hub i vzrůstajícím uplatňováním molekulárních technik v diagnostice těchto patogenů. Několik příspěvků bylo věnováno problematice sérodiagnostiky rostlinných virů, několik posterů využití elektronové mikroskopie v diagnostice a diferenciaci rostlinných virů a řada příspěvků a posterů se zabývala problematikou molekulární diagnostiky rostlinných virů a jim podobných patogenů.

Na úseku diagnostiky a identifikace fytovirů bylo předneseno 15 přednášek a prezentováno 23 posterů.

V úvodní sekci se Huttinga (IPO Wageningen, Nizozemsko) zaměřil na všeobecné aspekty diagnostiky virů, zdůvodnění potřeby diagnostiky v prevenci onemocnění a získávání zdravého rostlinného materiálu a uplatnění diagnostických metod v procesu charakterizace patogena. Zhodnotil jednotlivé diagnostické metody i z hlediska jejich citlivosti, specifčnosti a praktického uplatnění.

V druhé sekci Lesmann (SRN) shrnul současné metody elektronové mikroskopie pro diagnostiku a charakterizaci rostlinných virů. Tyto metody jsou použitelné pro: 1. detekci a identifikaci rostlinných virů; 2. morfologickou a strukturální charakterizaci molekul nukleové kyseliny; 3. determinaci sérologické příbuznosti (dekorace

částic, ISEM); 4. analýzu epitopů (monoklonální a vysoce specifické protilátky v kombinaci se značkováním zlatem – immunogold-labelling) na kapsidách virionu; 5. lokalizaci antigenů na ultratenkých řezech, přičemž specifickou lokalizaci virionů a nestrukturálních virových proteinů *in situ* je možné stanovit konvenčními antiséry nebo antiséry proti bakteriálně vyjádřeným strukturálním a nestrukturálním proteinům; 6. lokalizaci nukleových kyselin na ultratenkých řezech (*in situ* hybridizační techniky kombinované se specifickým značkováním protilátek zlatem).

Dolenc et al. (Slovensko) informovali o histologickém studiu náchylného kultivaru bramboru (*S. tuberosum* L. cv. Igor) infikovaného kmenem PVY NTN, který způsobuje nekrotickou kroužkovitost hlíz bramboru. V podmínkách *in vitro* byl růst meristému snížen u infikovaných rostlin ve srovnání se zdravými.

V sekci sérologické analýzy I prezentovali Cambra et al. (Španělsko) immunoprinting-ELISA, kterou vyvinuli pro rutinní detekci tristeza viru citrusu na nitrocelulózových membránách s použitím specifických monoklonálních protilátek proti obalovému proteinu viru. Tuto techniku použili také pro detekci nestrukturálních proteinů viru šarky švestky a pro rutinní detekci několika druhů viroidů. Navrhli rovněž a patentovali vysoce senzitivní metody rutinní diagnózy virů založené na PCR, Print-capture PCR (PC-PCR) a Spot-capture PCR (SC-PCR). V sekci sérologické analýzy II informovali Kaufmann et al. (SRN, Velká Británie, Rakousko, Nizozemsko) o produkci fragmentů protilátek specifických k viru v bakteriích. Pro selekci fragmentů protilátek (small antibody fragments – scFv) byly použity rekombinantní DNA techniky a podařilo se jimi stanovit virus nekrotické žluté žilkovitosti řepy (BNYVV) stejně citlivě jako s polyklonálními protilátkami. Knapp et al. (Rakousko) prezentovali metodiku uplatnění ELISA v programu ozdravení jabloní a peckovin od virů pomocí meristémů a termoterapie.

V páté sekci bylo předneseno devět referátů zabývajících se uplatněním polymerázové řetězové reakce (PCR) v diagnostice rostlinných virů. Koenigová (SRN) prezentovala stanovení BNYVV a příbuzného půdou přenosného viru řepy – beet soil-borne virus (BSBV) pomocí imunopoutání RT-PCR produktů. Kombinace této metody s RFLP (restriction fragment length polymorphism) a SSCP (single strand conformation polymorphism) umožnila citlivou diferenciaci kmenů obou virů, které nemusí být odlišitelné sérologicky. U obou příbuzných virů se vyskytuje řada kmenů, což způsobuje značné potíže v diagnostice. Mumford a Seal (Velká Británie) použili PCR v charakteristice a diagnostice potyvírů povíjnice jedlé, *Ipomea batatas* Lam. Schoena Leone (Nizozemsko) vypracovali metodu stanovení PLRV v jedné dormantní hlíze bramboru. Použili systém imunopoutání RT-PCR založený na fluorogenním stanovení. Stanovení je semikvantitativní a umožňuje automatizaci. Dobu inspekce sadbových bramborů je tak možné zkrátit z pěti týdnů na jeden den. Arts et al. (Holandsko) vypracovali metodu rutinního stanovení viroidu zakrslosti chry-

zantémy v rostlinách chryzantémy pomocí RT-PCR. Při aplikaci metody se však vyskytují problémy s nespecifickou reakcí zdravých rostlin. Mörbel et al. (SRN) identifikovali pomocí PCR tobamovirus izolovaný z New Guinea Impatiens jako kmen Ribgrass mosaic viru, který má 85% homologii sekvencí aminokyselin RNA. Koenigová et al. (SRN) stanovili sekvenci nukleotidů RNA beet soil-borne viru. Genom BSBV obsahuje 3 RNA, 6 kb, 3,6 kb a 3,2 kb. Byla stanovena sekvence nukleotidů BSBV RNA 2 a RNA 3. BSBV RNA 2 se podobá RNA 3 potato mop top viru, i když se jedná o sérologicky nepřibuzné viry. Lehto et al. (Finsko, Skotsko) stanovili pomocí IC-RT-PCR nepovirus spojený se zvratem černého rybízu. Autoři předpokládají, že izolovaný nepovirus je původcem zvratu černého rybízu. Bianco et al. (Itálie) stanovili a identifikovali pomocí PCR několik fytoplazem na révě vinné. Ve vinařských oblastech Itálie se vyskytují na révě vinné v různém rozsahu fytoplazmy 16SrI (žloutenka aster), 16SrV (žloutenka jilmu) a 16SrIII (X-onemocnění). Tyto fytoplazmy způsobují na révě vinné syndrom žloutenky. Faggioli et al. (Itálie) zkoušeli a srovnávali různé diagnostické metody, dvojsměrnou elektroforézu (dPAGE), molekulární hybridizaci, radioaktivní i neradioaktivní sondy pro stanovení viroidů v ovocných stromech.

Prezentace virologických posterů byla rozdělna do těchto částí: taxonomie a diferenciace, sérologické testy, techniky založené na hybridizaci nukleové kyseliny, stanovení a kvantifikace onemocnění. V první části Hamacker et al. (SRN) informovali o výsledcích použití elektronové mikroskopie pro rutinní diagnostiku rostlinných virů v poradenské službě. Elektronová mikroskopie velmi zlepšila účinnost diagnostiky rostlinných virů. Kölblber et al. (Maďarsko) získali v Maďarsku osmdesát izolátů viru šarky švestky z broskvoní, švestek, merunek a mandloní. Izoláty přenesli na biologické indikátory, hybridy GF 305 (broskvoň) a GF 31 (myrobalán) a testovali je pomocí DAS-ELISA, biotin-avidin ELISA a neradioaktivním sendvičovým hybridizačním testem nukleové kyseliny (NASH).

Řada virologických posterů byla prezentována v části sérologické testy. Baboš et al. (Rusko) informovali o bílkovinných inhibitech z listů bramboru, které inhibují sérologické vlastnosti fytovirů. Proteinové frakce z listů bramboru získali precipitací síranem amonným a chromatografií na DEAE-Sephadex A-50. Maximální inhibiční aktivita byla pozorována u PVY, a to redukce sérologické reakce ELISA až na nulovou hodnotu, menší u PVX a PVS. Čeřovská et al. (ČR, SR) demonstrovali diferenciaci a imunochemickou charakterizaci virů bramboru pomocí monoklonálních protilátek. Pomocí monoklonálních protilátek odlišili PVS^A kmen od obecného PVS^O kmenu. Dále připravili šest odlišných monoklonálních protilátek proti PVA, z nichž polovina je využitelná pro rutinní diagnostiku viru. Monoklonální protilátka připravená proti PVY^{NN} je testována proti odlišným kmenům a izolátům PVY. Eppler (SRN) srovnával přednosti a nedostatky použití monoklonálních, polyklo-

nálních a směsných antisér pro skřínink virů ve chmelu. Dospěl k závěru, že nejvhodnější jsou polyklonální protilátky. Finetti Sialer et al. (Itálie) připravili diagnostické kity pro multiplex (DIG – chemiluminescentní detekci šesti virů rajčete, CMV, TSWV, PVY, TYLCV, AMV (virus mozaiky vojtkšky) a ToMV (tobamo virus mozaiky rajčete). Připravené sondy byly značkovány digoxigeninem. Rabenstein a Schubert (SRN) stanovili virus mozaiky jílku pomocí monoklonálních protilátek a IC-PCR, přičemž použili polyklonální protilátky. Jednou monoklonální protilátkou bylo stanoveno všech deset zkoušených izolátů viru mozaiky jílku, zatímco druhou pouze osm (nebylo možné jí stanovit izoláty viru z České republiky a Nizozemska). Byla tak potvrzena odlišnost kmenů viru mozaiky jílku z různých zeměpisných oblastí Evropy. Werner et al. (SRN) použili IC RT-PCR pro stanovení viru svinutky třešně (CLRV) a viru mozaiky topolu (PoMV) v lesních stromech. CLRV je v lesních ekosystémech široce rozšířen a infikuje buk (*Fagus sylvatica* L.), břízu (*Betula* sp.) a jasan (*Fraxinus excelsior* L.), zatímco PoMV je omezen na topol (*Populus* sp.). Pomocí IC RT-PCR je možné viry stanovit i ve velmi malých vzorcích, např. v jednotlivém semeni.

V části techniky založené na hybridizaci nukleových kyselin většina posterů obsahovala virologickou problematiku včetně detekce mykoplazem. Bianco et al. (Itálie) připravili přehled detekce a diferenciaci různých fytoplazem infikujících révu vinnou v Itálii. Colinet et al. (Belgie, Čína) stanovili a diferencovali pomocí RT-PCR tři potyviry bataty. Führing a Büttner (SRN) stanovili pomocí hybridizace nukleové kyseliny v lesních stromech druhů jasan (*Sorbus aucuparia* L.), klen (*Acer pseudoplatanus* L.) a dub (*Quercus robur* L.) s příznaky chlorotické kroužkovitosti, strakatosti a mozaiky listů dva tobamoviry. Pro hybridizaci použili sondy RNA TMV a viru mozaiky rajčete značkové digoxigeninem a stanovení provedli postupem podobným western blotting. Latvala et al. (Finsko) izolovali a charakterizovali virus spojený se zvratem černého rybízu (black currant reversion associated virus), nový nepovirus z rybízu s příznaky zvratu. Leone et al. (Nizozemsko) stanovili virus svinutky bramboru v hlízách bramboru pomocí izotermální metody amplifikace nukleové kyseliny NASBA. Po elektroforéze byl reakční produkt NASBA vizualizován barvením agarozových gelů ethidium bromidem nebo acridinovou oranží. Northern blot analýza potvrdila specifickou amplifikačního produktu. Minimální množství čisté RNA stanovitelné NASBA bylo 0,4 fg (femtogramu), což odpovídá 100–150 molekulám, zatímco v případě purifikovaného viru to bylo 360 fg. Pomocí NASBA bylo možné stanovit PLRV přímo v extraktech z hlíz bramboru desetkrát zředěných vodou. Malinowski et al. (Polsko) identifikovali pomocí PCR dvě fytoplazmatická onemocnění, odumírání hrušně (pear decline) a americkou žloutenku astry (American aster yellows). Fytoplazma hrušně byla stanovena ve stromech hrušně s příznaky předčasného červenání listů a fytoplazma americké žloutenky astry

v *Helichrysum bracteatum* Willd. s příznaky redukce sekundárních výhonů, malformace květů a odumírání. Malinowski (Polsko) aplikoval metodu křemičitanového poutání (silicacapture) RT-PCR (SC-RT-PCR) pro stanovení PPV, ACLSV, PDV, ASGV a ASPV (apple stem pitting virus) v ovocných dřevinách a jejich bylinných hostitelích. Využil metodu reverzibilních vazebních vlastností křemičitanových částic k nukleové kyselině k získání čistého a koncentrovaného roztoku nukleové kyseliny, vhodného pro RT-PCR stanovení.

Mráz et al. (ČR) připravili neradioaktivní sondu pro stanovení viru žilkovitosti jahodníku, strawberry vein banding virus (SVBV). Šest z dvanácti českých izolátů z jahodníku s příznaky podobnými SVBV reagovalo pozitivně v dot-blot hybridizaci a stejně tak všech pět amerických izolátů SVBV. Rumbos a Avgelis (Řecko, Kréta) prezentovali výsledky výzkumu vlivu ročního období na stanovení viru roncentu révy vinné, grapevine fanleaf virus (GFLV), pomocí DAS-ELISA. Přestože pozorovali odlišnosti mezi kultivary, zjistili, že GFLV je možné stanovit na Krétě v kterémkoli vegetačním období, dokonce i ve velmi teplých měsících červenci a srpnu. Vetten et al. (SRN) provedli diferenciaci potyvírů rodu *Allium* pomocí PCR. Potvrdili sérologický důkaz, že se na rostlinách *Allium* sp. vyskytují přinejmenším tři odlišné potyviry – virus proužkovitosti cibule, onion yellow dwarf virus (OYDV), virus žluté pruhovitosti póru, leek yellow stripe virus (LYSV), a virus žluté pruhovitosti šalotky, shallot yellow stripe virus (SYSV). Izoláty OYDV z cibule (O) a z česneku (G) jsou pouze kmeny jednoho viru. Winter et al. (SRN) stanovili a diferencovali molicemi přenosný closterovirus batáty, sweet potato closterovirus (SPVD-aC), pomocí RT-PCR a jednovláknovým konformačním polymorfismem. Van der Vlugt et al. (Nizozemsko) identifikovali pomocí IC-RT-PCR a normální RT-PCR dva potyviry infikující Alstroemerie, Alstroemeria mosaic potyvirus a Alstroemeria streak potyvirus. Latvala et al. (Finsko) izolovali a charakterizovali nový nepovirus izolovaný ze zvrátového černého rybízu. Částice izolovaného viru jsou izometrické, velikost 27 nm v průměru. Ke stanovení black current reversion associated viru (BCRAV) použili IC-RT-PCR.

V části posterů s tematikou stanovení a kvantifikace onemocnění Büttner a Graf (SRN) informovali o výskytu onemocnění maloplodností třešní v třešňových sadech severního Německa. Choroba je spojena s closterovirem a způsobuje v posledních pěti letech silné ztráty výnosů třešní. Onemocnění se rychle šíří, proto se předpokládá přenos patogena vektory a půdou. Polák (ČR) zjišťoval úlohu trnky v epidemiologii viru šarky švestky v České republice. PPV je na trnce rozšířen v malém rozsahu v oblastech se silným výskytem šarky. *Prunus spinosa* je pravděpodobně pouze sekundárním zdrojem infekce. Špak et al. (ČR) prokázali výskyt viru keříkové zakrslosti maliníku, raspberry bushy dwarf virus (RBDV), v ČR. Virus byl zjištěn na šestnácti kultivarech maliníku a ostružiníku a byl prokázán pomocí metody ELISA

a přenosem mechanickou inokulací na *C. quinoa*. Staniulis (Litva) zjišťoval přenosnost viru pravé mozaiky bobu, broad bean trus mosaic virus (BBTMV), semenem bobu v podmínkách Litvy. Z virem infikovaných rostlin cv. Aušra byl virus přenášen 4,59 % semen. BBTMV silně redukuje výnosy (48,1 %), počet lusků (42,9 %) i počet semen (51,2 %).

V rámci mezinárodní konference Evropské fytopatologické společnosti se také konalo 4. zasedání rady EFPP za účasti delegátů národních členských společností a předsedy redakční rady vědeckého časopisu společnosti, European Journal of Plant Pathology. K EFPP byly připojeny nově založené fytopatologické společnosti Litvy, Běloruska a České republiky. Jednání rady se za Českou republiku zúčastnil předseda České fytopatologické společnosti prof. Ing. Vladimír Táborský, CSc., a sekretář Ing. J. Polák, DrSc. Rozšířená rada rozhodla, že v roce 1998 se nebude konat konference EFPP, neboť se koná Mezinárodní fytopatologický kongres v Edinburghu. Hlasováním rozšířené rady bylo rozhodnuto, že se 5. konference EFPP bude konat v roce 2000 v Itálii a 6. konference EFPP v roce 2000 v Praze. Organizační zajištění přislíbila Česká zemědělská univerzita Praha a VÚRV – odbor rostlinolékařství, Praha-Ruzyně. Dále byli zvoleni noví funkcionáři Rady EFPP. Prezidenta rady nominuje Italská fytopatologická společnost, vicepresidentem se pro období 1996 až 2000 stává prof. Dehne (SRN), generálním sekretářem dr. van den Heuval (Nizozemsko) a pokladníkem prof. Sundheim (Norsko). Dr. Hardwick (V. Británie), sekretář Organizačního výboru Mezinárodního kongresu rostlinné patologie v Edinburghu vyzval EFPP ke spoluúčasti na kongresu v roce 1998. Rada EFPP navrhla organizovat společně s EPPO sekci Zdraví rostlin/karanténa a téma Evropská plodina – cukrová řepa. Dr. Sweet a dr. Hardwick návrhy projednají v organizačním výboru. Dále bylo rozhodnuto o vytvoření databáze Evropských rostlinných patologií. Vyplnění dotazníků zorganizují národní společnosti. Příští zasedání Rady EFPP se bude konat během kongresu v Edinburghu v roce 1988.

Ing. Jaroslav Polák, DrSc.

Pokyny pro autory

Časopis uveřejňuje práce, které jsou výsledkem původních vědeckých výzkumů, krátká sdělení a v rubrice Přehledy kompilační články (review paper), tzn. práce, jejichž podkladem je studium literatury a které shrnují nejnovější poznatky v dané oblasti. V rubrikách jsou zařazovány aktuality z vědeckého života, recenze knih, články k životním jubileím a nekrology.

Práce jsou uveřejňovány v češtině, slovenštině nebo angličtině. Rukopisy musí být doplněny krátkým a rozšířeným souhrnem. V práci je nutné používat jednotky odpovídající soustavě jednotek SI (ČSN 01 1300).

Autor je plně odpovědný za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. K práci musí být přiloženo prohlášení autora o tom, že práce nebyla publikována jinde.

O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu i kvalitě práce.

Technická úprava rukopisu

Má odpovídat státní normě ČSN 88 0220. Ilustrace, grafy, tabulky a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na zadní straně se vyznačí tužkou pořadové číslo obrázků nebo grafů. Tabulky se číslují zvlášť římskými číslicemi. Na všechny tabulky a obrázky musí být odkazy v textu.

Vlastní úprava vědecké práce

Název práce (titul) nemá přesahovat 85 úhozů. Je nutné vyvarovat se v názvu obecných frází. Každý zasláný článek musí být samostatnou prací, nemohou být publikovány články na pokračování, stejně tak jsou vyloučeny podtitulky článků.

Jména autorů se uvádějí bez titulů, s celým křestním jménem.

Souhrn – krátký

Souhrn musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, nemá ji však nahradit. Nesmí překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl psán celými větami (ne telegrafickým způsobem).

Souhrn – rozšířený

v angličtině (u prací v češtině nebo slovenštině) nebo český (slovenský) u prací v angličtině

Je povinnou součástí prací a sdělení. Rozšířený souhrn musí poskytnout základní informaci o použitých metodách (např. odkazem na literární pramen). Jsou v něm komentovány výsledky práce, uvedeny odkazy na tabulky, obrázky a nejdůležitější literaturu. Souhrn může být zaslán v angličtině.

Klíčová slova (KEY words, index terms)

Připojují se po vynechání řádku pod souhrn. Klíčovým slovem rozumíme substantivum, které je nutné pro věcné zařazení předložené práce. Klíčová slova se řadí směrem od obecnějších výrazů ke konkrétním. Začínají malým písmenem a oddělují se středníkem.

Úvod

Má obsahovat hlavní důvody, proč byla práce uskutečněna, a velmi stručnou formou stav studované otázky. Je nutné se v něm vyhnout rozsáhlým historickým přehledům. Uvádí se bez nadpisu, je možné v něm uvést odkazy na literaturu vztahující se k práci (doporučuje se co nejnižší počet odkazů). Musí v něm být jasně formulovány cíle práce.

Materiál a metody

Model pokusu musí být popsán podrobně a výstižně. Použité metody statistické analýzy by měly být adekvátní modelu. Metody se popisují pouze tehdy, jsou-li původní, jinak stačí citovat autora metod a uvádět jen případné odchylky. V této kapitole je popsán pokusný materiál. Popis metod by měl umožnit, aby kdokoli z odborníků mohl práci opakovat.

Výsledky

Doporučuje se nepoužívat k vyjádření kvantitativních hodnot tabulek a dát přednost grafům, anebo tabulky shrnout v statistickém hodnocení naměřených hodnot. Numerické výsledky by se neměly opakovat v textu. Tato část práce by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale pouze faktické nálezy.

Diskuse

Obsahuje zhodnocení práce, diskutuje se o možných nedostatcích a práce se konfrontuje s výsledky již dříve publikovanými (požaduje se citovat jen ty autory, kteří mají k publikované práci bližší vztah), pokud mají souvislost nebo jsou s předloženou prací nějak srovnatelné. Je přípustné spojení s předchozí kapitolou (Výsledky a diskuse).

Literatura

Citace se řadí abecedně podle jména prvních autorů: příjmení (verzálkami), zkratka jména, rok vydání, plný název práce, úřední zkratka časopisu, ročník, první – poslední stránka; u knih je uvedeno místo vydání a vydavatel. Odkazy na literaturu v textu uvádějí jméno autora a rok vydání. Do seznamu se zařadí jen práce citované v textu.

Kontaktní adresa

Musí obsahovat plné jméno prvního autora, akademické, vědecké a pedagogické tituly a podrobnou adresu pracoviště s PSČ, číslo telefonu a faxu, e-mail adresu.

Používání zkratk

Pokud autor používá v práci zkratk jakéhokoliv druhu, je nutné, aby byly alespoň jednou vypsány, aby se předešlo omylům. V názvu práce a v souhrnu je lépe zkratk nepoužívat.

Práce zpracované textovým editorem na PC by měly být do redakce zaslány i na disketě (včetně grafických příloh).

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, fax and 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

Bittóová M., Hrouda M., Komínek P.: Molecular detection of plum pox virus – Detekce viru šarky švestky molekulárními technikami.	1
Honěk A., Novák I.: Chlorophyll content and leaf damage by <i>Oulema</i> larvae in winter wheat – Obsah chlorofylu a poškození praporcových listů pšenice ozimé larvami kohoutků (<i>Oulema</i> sp.)	9
Pekár S.: Short-term effect of liquid fertilizer (UAN) on beneficial arthropods (Aranea, Opiliona, Carabidae, Staphylinidae) in winter wheat – Krátkodobý účinek tekutého hnojiva DAM 390 na přirozené nepřátele škůdců pšenice ozimé (Aranea, Opiliona, Carabidae, Staphylinidae)	17
Martinková Z., Honěk A.: Geographic variation in the rate of seed dormancy termination in barnyard grass, <i>Echinochloa crus-galli</i> – Geografická variabilita rychlosti ukončení dormance obilky ježatky kuří nohy, <i>Echinochloa crus-galli</i>	25
Michalíková A., Michrina J.: Účinnost biopreparátů v ochraně jačmeňa jarného proti fuzariózám – Efficacy of bioformulations to protect spring barley from fusarial diseases	33
Kabíček J.: Roztoči čeledi Phytoseiidae opuštěného jabloňového sadu a okolní vegetace – Phytoseiid mites of an abandoned apple orchard and in surrounding vegetation.	49
Werner P.: Rezistence potěmníků <i>Tribolium castaneum</i> (Coleoptera: Tenebrionidae) vůči insekticidům v České republice – Insecticide Resistance in red flour beetle, <i>Tribolium castaneum</i> (Coleoptera: Tenebrionidae) in the Czech Republic	57

KRÁTKÁ SDĚLENÍ – SHORT COMMUNICATION

Azorová M.: Mapovanie výskytu rizománie na Slovensku v jeseni roku 1995 – Mapping of occurrence of rhizomania during autumn of 1995 in Slovakia	65
---	----

AKTUALITY – NEWS

Polák J.: Současný pokrok ve výzkumu diagnostiky a identifikace rostlinných virů prezentovaný na 4. mezinárodním sympoziu EFPP v Bonnu	73
--	----

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: 02/242 539 38, e-mail: braun@uzpi.agrec.cz ♦ Sazba: RNDr. Marcela Braunová, Nad Palatou 54, 150 00 Praha 5 ♦ Tisk: ÚZPI Praha ♦ © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1997

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