

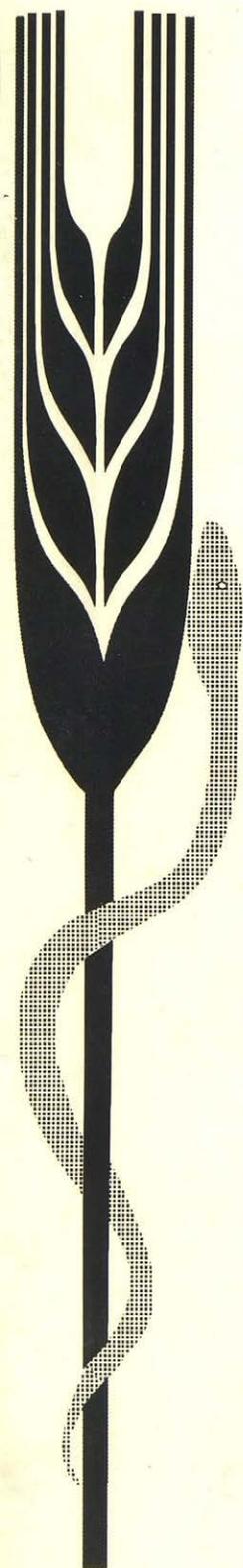
CZECH ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES

Plant Protection Science

Ochrana rostlin

Published by
INSTITUTE OF AGRICULTURAL
AND FOOD INFORMATION PRAGUE

Volume 34 – No 2
June 1998
CS ISSN 0862-8645



Journal for phytopathology, animal pests, weed and plant protection sciences published under the auspices of the Czech Academy of Agricultural Sciences and financed by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic.

Vědecký časopis pro fytopatologii, užitou zoologii, herbológii a ochranu rostlin vydávaný pod záštitou České akademie zemědělských věd s finanční podporou Ministerstva zemědělství České republiky.

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), in Review of Agricultural Entomology, Review of Plant Pathology of CAB International Information Services (CAB ABSTRACTS database) and AGROINDEX.

Editorial Board – Redakční rada

prof. Ing. Václav Kúdela, 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 Rasocho, CSc., Ing. Vladimír Řehák, CSc., doc. RNDr. Josef Šedivý, DrSc., Ing. Prokop Šmirous, CSc., prof. Ing. Vladimír Táborský, CSc., Ing. Marie Váňová, CSc.

Foreign Members of the Editorial Board – Zahraniční členové redakční rady

Prof. Dr. I. R. Crute, PhD (Great Britain), Prof. 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), Prof. Dr. F. Virányi (Hungary), Prof. Dr. J. C. Zadoks (The Netherlands), Prof. Dr. V. Zinkernagel (Germany)

Editor-in-Chief – Vedoucí redaktorka

RNDr. Marcela Braunová

Aim and scope: The journal publishes original scientific papers, preliminary reports, short communications and reviews. Paper are published in English or in Czech, Slovak and German.

Periodicity: The journal is published quarterly. Volume 34 (LXXI) appearing in 1998.

Acceptance of manuscripts: Two copies of manuscript should be addressed to: RNDr. Marcela Braunová, editor-in-chief, Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2, Czech Republic, tel.: + 420 2 25 10 98, fax: + 420 2 242 538 39, e-mail: editor@login.cz. Both the dates of the reception of the manuscript and of the acceptance by the editorial board for publishing will be indicated in the printed contribution.

Subscription information: Subscription orders can be entered only by calendar year and should be sent to the contact address. Subscription price for 1998 is 56 USD (Europe) and 58 USD (overseas).

Cíl a odborná náplň: Časopis publikuje původní vědecké práce, předběžná a krátká sdělení a odborná review. Práce jsou publikovány v angličtině a rovněž v češtině, slovenštině a němčině.

Periodicita: Časopis vychází čtvrtletně. Ročník 34 (LXXI) vychází v roce 1998.

Přijímání rukopisů: Rukopisy ve dvou kopiích je třeba zaslat na adresu redakce: RNDr. Marcela Braunová, vedoucí redaktorka, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, Česká republika, tel.: 02/25 10 98, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@login.cz. V uveřejněném příspěvku se uvádí jak datum doručení rukopisu do redakce, tak i jeho přijetí redakční radou k publikaci.

Informace o předplatném: Objednávky na předplatné jsou přijímány na celý rok na adrese: Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena předplatného pro rok 1998 je 224 Kč.

Enzyme-Amplified ELISA for Detection of Beet Mild Yellowing Virus in Aphids

Jaroslav POLÁK

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

Abstract

POLÁK J. (1998): Enzyme-amplified ELISA for detection of beet mild yellowing virus in aphids. *Pl. Protect. Sci.*, 34: 45–48.

Two serological tests, double antibody sandwich ELISA (DAS-ELISA) and enzyme-amplified ELISA (AMP-ELISA) were used to detect beet mild yellowing virus (BMV) in aphids of *Myzus persicae* (Sulz.). AMP-ELISA appeared to be more sensitive and reliable for detection. Absorbance values of AMP-ELISA were approximately twice those with standard ELISA. Reliability of BMV detection was higher after 48 h of acquisition time than with 24 h acquisition. BMV was reliably detected in samples prepared from groups of four and more aphids. BMV was not detected in individual aphids after 24 h of acquisition, but two out of five aphids were found to be BMV positive after 48 h of acquisition. While AMP-ELISA is a more suitable method for detection of BMV in aphids, low virus concentrations in aphids make a reliable detection of BMV in individual aphids impossible.

beet mild yellowing virus; detection; enzyme-amplified ELISA; DAS-ELISA; *Myzus persicae*

Immunoenzymatic detection of plant viruses (enzyme-linked immunosorbent assay – ELISA) has been used over fifteen years as a routine and reliable diagnostic method. ELISA was employed for evaluation and certification of health condition of plant material and agricultural crops. Its sensitivity enables fast diagnosis of plant viruses in fruit trees or viruses localized in phloem tissues (e.g. potato leaf roll virus). Detection of viruses in vectors or in seeds remained less reliable because of very low concentration of virions. The difference between the absorbance value of the background reaction of a healthy sample and the absorbance value of a sample taken from diseased tissue is often inconclusive. Enzyme-amplified ELISA (AMP-ELISA) could be more reliable for detection of viruses in vectors.

Enzyme-amplified ELISA, developed by SELF (1982), is based on enzyme labels catalyzing the formation of a trigger molecule which activates a number of secondary enzymatic reactions, resulting in a change of colour. This method has been used successfully in diagnosis of proteins, but not in plant virology (BATES 1987). CARR et al. (1987) demonstrated general applicability of substrate amplification to ELISA systems for detection of antibodies and immune complexes. AMP-ELISA was used in plant virology for the first time for the detection of barley yellow dwarf virus in oats and aphids by TORRANCE (1987). BEN ZE'EV et al. (1988) proved its advan-

tages for detection of viruses occurring in low concentrations in plants. By this method, the sensitivity to detect citrus tristeza virus and papaya ringspot virus in plant sap was 25 and 125 times higher, respectively, than that of double antibody sandwich ELISA. On the other hand, GEERING and THOMAS (1996) found the same sensitivity of both triple-antibody sandwich ELISA, colorimetric dot immunobinding assay and enzyme amplification technique for detecting banana bunchy top virus in banana. RABENSTEIN and SCHLIEPACKE (1996) used AMP-ELISA for detection of luteoviruses BWYV, BMV, BaYDV and PLRV in plants and aphids. AMP-ELISA was one or two steps more sensitive in comparison with DAS-ELISA. The aim of our effort was to verify the reliability of AMP-ELISA to detect beet mild yellowing virus in aphids of *Myzus persicae*.

MATERIAL AND METHODS

Aphids, virus and plants

Apterous aphids of *Myzus persicae* (Sulz.) were maintained and multiplied on virus-free plants of winter rape (*Brassica napus*). *B. napus* is immune to BMV and was used for control sucking of aphids. Beet mild yellowing virus was isolated from a sugar beet plant showing symptoms typical for this virus and was characterized on in-

indicator plants (POLÁK, CHOD 1975). BMVY was maintained in mustard (*Sinapis alba*). Aphids were transferred to BMVY infected mustard plants with symptoms of yellowing and violetting. After 24 or 48 hrs of acquisition feeding, individual aphids or groups of aphids were used for BMVY detection by DAS-ELISA or AMP-ELISA.

Preparation of samples

Individual or groups of aphids were ground in 0.5 ml phosphate buffered saline (PBS) buffer pH 7.2 with 2% polyvinylpyrrolidone, 0.2% bovine serum albumine and 0.05% Tween 20, and used as samples for detection of BMVY by ELISA.

ELISA

Immunoenzymatic detection of BMVY by DAS-ELISA (CLARK, ADAMS 1977) was used as a control procedure for the detection of BMVY in aphids. One half of a sample (0.2 ml) was used for DAS-ELISA and the other half for AMP-ELISA. Commercial BMVY polyclonal antibodies (Löwe) and GIBCO BRL ELISA amplification system (Life Technologies) were applied. The same procedure (DAS-ELISA) was used in AMP-ELISA till coating of the plate with conjugated IgG. After coating of the plate with conjugated IgG and five hours incubation

at 36 °C the antibodies were removed and the plate was washed five times in PBS. A special substrate with nicotinamide adenine dinucleotide phosphate monosodium salt pH 9.5 (NADP) was added to a microplate (50 µl per well) and incubated 10 min at room temperature on a shaker. 50 µl of amplifier (amplifying enzymes alcohol dehydrogenase and diaphorase) in 20mM Na-phosphate buffer pH 7.2 (amplifier buffer) was added on top of the NADP and the plate incubated 10 min at room temperature on the shaker. Absorbance was measured at 490 nm. ELISA tests were considered positive if absorbance values were five times higher than the average of the healthy controls.

RESULTS AND DISCUSSION

Results of detection of BMVY using DAS-ELISA and AMP-ELISA in *Myzus persicae* (Sulz.) after 24 hrs of acquisition time of apterous individuals on mustard leaves infected with BMVY are presented in Table 1. BMVY was not detected in individual aphids. Results of detection by DAS-ELISA were negative. Detection in one out of five samples by AMP-ELISA was at the limit of being conclusive. BMVY was detected by both tests in two out of three samples when two or three aphids were homoge-

Table 1. Results of enzyme-amplified ELISA and DAS-ELISA detection of BMVY in aphids *M. persicae* after 24 hrs of acquisition time

Number of aphids	AMP-ELISA	DAS-ELISA
1	0.014	0.013
1	0.017	0.015
1	0.057	0.038
1	0.021	0.019
1	0.032	0.021
2	0.182	0.080
2	0.132	0.125
2	0.056	0.030
3	0.267	0.146
3	0.135	0.073
3	0.031	0.020
4	0.123	0.095
4	0.083	0.045
4	0.193	0.126
5	0.092	0.054
5	0.192	0.124
5	0.273	0.146
10	0.232	0.099
20	0.258	0.236

Table 2. Results of enzyme-amplified ELISA and DAS-ELISA detection of BMVY in aphids *M. persicae* after 48 hrs of acquisition time

Number of aphids	AMP-ELISA	DAS-ELISA
1	0.019	0.008
1	0.029	0.043
1	0.198	0.099
1	0.018	0.002
1	0.175	0.083
5	0.344	0.184
5	0.107	0.066
5	0.539	0.261
5	0.340	0.162
5	0.244	0.147
10	0.235	0.124
20	0.385	0.243
1H	0.021	0.027
1H	0.016	0.012
5H	0.010	0.019
5H	0.031	0.028

1H = sample from one aphid sucking on virus free plant of winter rape

5H = sample from five aphids sucking on virus free plant of winter rape

nized together. Virus was determined by AMP-ELISA in all samples if four or five aphids were homogenized together, while DAS-ELISA was positive only in two of three such samples. Absorbance values of samples detected by AMP-ELISA were higher than with DAS-ELISA.

Results of BMVYV detection in *M. persicae* using DAS-ELISA and AMP-ELISA after 48 hrs of acquisition are presented in Table 2. BMVYV was detected by both methods in two of five samples of individual aphids, and in all samples containing five, ten and twenty aphids. BMVYV detection using DAS-ELISA was in several cases close to the limit of being conclusive. Absorbance values of BMVYV detection in aphids by AMP-ELISA were conclusive. Results of control detection of BMVYV in healthy and infected mustard plants are given in Table 3. The background in both reactions, DAS-ELISA and AMP-ELISA, was very low. Absorbance values of samples from healthy plants were close to zero. We did not observe a higher background reaction with AMP-ELISA as mentioned by BEN ZE'EV et al. (1988). Our background values in samples from healthy aphids were in both DAS-ELISA and AMP-ELISA very low and varied between 0.01 and 0.03. It is possible to explain this fact by high specificity of the antibodies used.

Table 3. Control ELISA detection of BMVYV in healthy and BMVYV infected plant of *Sinapis alba* L.

<i>Sinapis alba</i>	Healthy	BMVYV infected
DAS-ELISA	0.005	0.274
Amplified ELISA	0.006	0.474

The results confirmed the higher sensitivity of AMP-ELISA and its higher reliability to detect BMVYV in *M. persicae*. Since the concentration of BMVYV in aphids was very low, it was not possible to prove the virus in individual aphids after 24 hrs of acquisition time. BMVYV was detected in homogenates of two and three aphids, and reliably in samples prepared from four and more aphids. In some individuals the virus was detected after 48 hrs of

acquisition time. Detection of BMVYV in aphids of *M. persicae* was mentioned by RABENSTEIN and SCHLIEPHAKE (1996) who stated that AMP-ELISA can improve the detection of BMVYV in aphids but gave no further details.

References

- BATES D. L. (1987): Enzyme amplification in diagnostics. Trends Biotechn., 5: 204–209.
- BEN-ZE'EV J. S., FRANK, A., BAR-JOSEPH M. (1988): Sensitive detection of two plant viruses by enzyme-amplified ELISA: Phytoparasitica, 16: 343–349.
- CARR R. I., MANSONE M., SADI D., JAMES H., JONES J. V. (1987): A substrate amplification system for enzyme linked immunoassays. Demonstration of its general applicability to ELISA systems for detecting antibodies and immune complexes. J. Immunol. Methods, 98: 201–208.
- CLARK M. F., ADAMS A. N. (1977): Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. J. gen. Virol., 34: 51–57.
- GEERING A. D. W., THOMAS J. E. (1996): A comparison of four serological tests for the detection of banana bunchy top virus in banana. Aust. J. Agric. Res., 47: 402–413.
- POLÁK J., CHOD J. (1975): The occurrence of beet mild yellowing virus in Czechoslovakia. Biol. Plantarum, 17: 304–308.
- RABENSTEIN F., SCHLIEPHAKE E. (1996): Einsatz des enzymverstärkten ELISA zum Nachweis von Pflanzenviren in Zuchtmaterial von Kulturpflanzen (Raps, Getreide, Zuckerrüben, Kartoffeln), deren Blattlausvektoren (Aphiden) sowie natürlich infizierten Wirtspflanzen (Unkräutern). Nachrichten BZK Quedlinburg, 4: 22–27.
- TORRANCE L. (1987): Use of enzyme amplification in an ELISA to increase sensitivity of detection of barley yellow dwarf virus in oats and in individual vector aphids. J. Virol. Methods, 15: 131–138.
- SELF C. H. (1982): European Patent Application No: 82301170.5 (EP 60123), Abstracted in Chem. Abstr., 97: 212066 D.

Received for publication March 23, 1998

Accepted for publication May 11, 1998

Souhrn

POLÁK J. (1998): ELISA s amplifikovaným enzymem pro detekci viru mírného žloutnutí řepy ve mšicích. Pl. Protect. Sci., 34: 45–48.

Bylo porovnáno stanovení BMVYV ve mšicích *M. persicae* (Sulz.) pomocí ELISA dvojitého sendviče (DAS-ELISA) a ELISA s amplifikovaným enzymem (AMP-ELISA). Byla zjištěna vyšší citlivost a spolehlivost stanovení BMVYV ve mšicích pomocí AMP-ELISA. Hodnoty absorbance AMP-ELISA byly přibližně dvakrát vyšší než standardní ELISA. Spolehlivost stanovení BMVYV ve mšicích je vyšší po 48 hodinách akvizčního sání než po 24 hodinách. BMVYV byl spolehlivě stanoven ve vzorcích skupin více než čtyř mšic. Po 24 hodinách akvizčního sání nebyl BMVYV stanoven v jednotlivých mšicích, zatímco po

48 hodinách akvizičního sání byl stanoven ve dvou z pěti jednotlivých mšic. AMP-ELISA je vhodnější metodou pro stanovení BMVYV ve mšicích, avšak nízká koncentrace viru ve mšicích neumožňuje spolehlivé stanovení viru v jednotlivých mšicích.

virus mírného žloutnutí řepy; stanovení; ELISA s amplifikovaným enzymem; DAS-ELISA; *Myzus persicae*

Contact address:

Ing. Jaroslav P o l á k ; DrSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, odbor rostlinolékařství, 161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika,
tel.: + 420 2 330 22 402, fax: + 420 2 36 52 28, e-mail: polak@hb.vurv.cz

Mite Fauna of Stored Grain in the Czech Republic*

Eva ŽDÁRKOVÁ

Research Institute of Crop Production – Division of Stored Product Pest Control,
Prague-Ruzyně, Czech Republic

Abstract

ŽDÁRKOVÁ E. (1998): Mite fauna of stored grain in the Czech Republic. Pl. Protec. Sci., 34: 49–52.

Faunistic research was done in 64 different grain stores (brick stores, hangars, silos) in the Czech Republic during 1996. One hundred and twelve samples of wheat, 74 samples of barley and 70 samples of sweepings were examined. Average moisture content of wheat and barley samples was 13–13.6%. Sampling was done in spring and autumn when the grain stores were full. Thirty two species of mites were found (15 species of the order Astigmata, 10 species of the order Prostigmata and 7 species of the order Mesostigmata). Barley was more infested by mites than wheat. Over 90% of the samples of sweepings were infested, which means that sweepings are a source of infestation and the place where mites can survive when the stores are empty. The dominant acaroid mites were *Lepidoglyphus destructor* and *Acarus siro*, the predatory mite *Cheyletus eruditus* and the mouldfeeder *Tydeus interruptus*. From the composition of species found we assume that grain stored 30 and 20 years ago had a higher moisture content and less dashes than the grain stored in 1996.

stored grain; mites; faunistics

One of the most important and interesting projects of the Department of Stored Product Pest Control of the Research Institute of Food Industry, Prague, was a study of the fauna of agricultural and food processing plants made in 1965 (ŽDÁRKOVÁ 1967). Over 120 factories were visited and almost 400 samples examined. Since then there has not been another possibility to do such a comprehensive research again. The scientists of the department concentrated on stored grain which belongs to the strategic commodities because of the nutrition of people and the amount of stored material. In 1975 imported grain was examined. After 1989 it was necessary to repeat the faunistic research, when the ownership of industrial companies had changed.

In spite of difficulties in comparing faunistic results of different decades (weight of samples, place of sampling and their small number were not comparable), we tried to compare at least the occurrence of different species.

MATERIAL AND METHODS

Wheat and barley are the most common grains stored in the Czech Republic. Therefore, most of the samples were taken of these two commodities.

The samples were collected by the author and other members of the Department of Stored Product Pest Control of the Research Institute of Crop Production. One hundred and twelve samples of wheat and 74 samples of barley were examined. The samples were collected in 64 grain stores such as brick stores (29), hangars (6) and silos (29) in Bohemia and Moravia. Sampling was done in spring and autumn, when the grain stores were full. Samples were taken from the corners and from the center in brick stores, and from the top and from the outlet of silo bins. They were taken from the surface and from a depth of 1 m by a rod sampler, each sample weighing 2.5 kg. Samples were transported in plastic bags to the laboratory. Two hundreds grams were analyzed by a heat extraction apparatus. The time of exposure was 24 h, the distance of a 25 W bulb from the sieve was 20 cm. The mites were gathered in Oudemans solution. They were counted individually only in samples containing no more than 500 specimens in 200 g of the substrate. Samples containing greater numbers of mites were estimated by the Solomon's method (SOLOMON 1945). The rest of the sample was processed mechanically by being passed through sieves with meshes 2 mm in diameter in order to separate other kinds of pests such as beetles and moths.

* The project was supported by the grant no. 522/96/1043 of the Grant Agency of the Czech Republic.

Table 1. List of species

Species	Number of infested samples			Percent of all samples taken
	wheat	barley	sweeping	
Astigmata				
Acaridae				
<i>Acarus siro</i> L.	10	12	14	14
<i>Acarus farris</i> (Oud.)	4	5	7	6.2
<i>Acarus immobilis</i> Griffiths	-	-	1	0.4
<i>Tyrophagus putrescentiae</i> (Schrank)	3	9	5	6.6
<i>Tyrophagus neiswanderi</i> John. & Bruce	-	1	-	0.4
<i>Tyrophagus longior</i> (Gerv.)	-	2	7	3.5
<i>Tyrophagus perniciosus</i> Zachv.	-	-	2	0.8
<i>Tyrophagus tropicus</i> Robert	-	1	-	0.4
<i>Tyrophagus miripes</i> Athias-Henriot	-	-	1	0.4
<i>Caloglyphus oudemansi</i> (Zachv.)	-	-	1	0.4
Glycyphagidae				
<i>Lepidoglyphus destructor</i> (Schrank)	19	33	22	29
<i>Lepidoglyphus michaeli</i> (Oud.)	-	-	1	0.4
<i>Glycyphagus privatus</i> Oud.	-	-	1	0.4
<i>Ctenoglyphus plumiger</i> (Koch)	-	-	1	0.4
<i>Chortoglyphus arcuatus</i> (Troup.)	-	1	6	2.7
Prostigmata				
Cheyletidae				
<i>Cheyletus eruditus</i> (Schrank)	16	12	25	20.7
<i>Cheyletus aversor</i> Rohden.	-	-	1	0.4
<i>Cheyletus trouessarti</i> Oud.	-	1	7	3.1
<i>Cheyletus malaccensis</i> Oud.	4	1	-	1.9
<i>Acaropsellina docta</i> (Berl.)	5	4	2	4.3
<i>Neoeucheyla pavlovskii</i> Volgin	-	-	1	0.4
Bdellidae				
<i>Spinibdella lignicola</i> (Canestr.)	-	-	1	0.4
Tydeidae				
<i>Tydeus interruptus</i> Sig Thor	6	16	29	
Tarsonemidae				
<i>Tarsonemus granarius</i> Lind.	4	6	12	8.6
Pyemotidae				
<i>Pyemotes herfsi</i> Oud.	1	-	-	0.4
Mesostigmata				
Laelapidae				
<i>Haemogamasus pontiger</i> (Berlese)	1	5	5	4.3
<i>Androlaelaps casalis</i> Berlese	1	2	1	1.6
<i>Eulaelaps stabularis</i> (C. L. Koch)	-	-	3	1.2
Ascidae				
<i>Blattisocius tarsalis</i> (Berlese)	-	-	1	0.4
<i>Blattisocius keegani</i> Fox	1	1	-	0.8
<i>Proctolaelaps pygmeus</i> (Müller)	1	1	1	1.2

Determination of mites was based on the papers by GRIFFITHS (1964), HUGHES (1977), JOHNSTON and BRUCE (1965), ROBERTSON (1959, 1961), SAMŠIŇAK (1962, 1966), ZACHVATKIN (1941).

RESULTS AND DISCUSSION

Altogether 256 samples were taken from brick stores and silos (112 samples of wheat, 74 samples of barley and 70 samples of sweepings). Thirty two species were found (15 species of the order Astigmata, 10 species of the order Prostigmata and 7 species of the order Mesostigmata). The species found are listed on Table 1.

Wheat

One hundred and twelve samples were taken. Thirty six samples were collected in brick stores, 4 in hangars and 72 in silos. The average moisture content of silo samples was 13%, of stores and hangars 13.6% and 15.2%, respectively. Thirty four samples (30.3%) were infested by acaroid mites and in 25 samples (22.3%) predatory mites were found. Fifty percent of the samples from brick stores, 25% from hangars and 20.8% from silos were infested by acaroid mites. Altogether 14 species of mites were found. The most common species, *L. destructor*, was found in 17 samples (i.e. 15.2%), *C. eruditus* in 16 samples (14%) and *A. siro* was found in 10 samples (8.9%). *L. destructor* was found equally often in brick stores as in silos, while *C. eruditus* was more common in silos and *A. siro* was more common in brick stores.

In 1975, 42 samples of wheat had been taken. From that number 22 samples (52.4%) were infested by *A. siro*, 18 (42.8%) by *C. eruditus* and 14 samples (33.3%) by *L. destructor*.

When comparing the results of 1975 and 1996, we can see that the most common species in 1975 was the primary pest *A. siro*, whereas in 1996 it was the secondary pest *L. destructor*, and the percentage of infestation by the dominant species was higher in 1975 (52.4%) than in 1996 (15.2%). However, the first three most frequent species are the same. It could mean that in 1975 the wheat had a higher moisture content and less dashes than in 1996.

Barley

Seventy four samples were taken. Twenty four samples were collected in brick stores, 4 in hangars and 46 in silos. The average moisture content of samples taken in silos, brick stores and hangars was 13.3%, 13.4% and 13.6%, respectively. Mites were found in 54 samples, i.e. in 73%. Acaroid mites were found in 45 samples, i.e. 60.8% of all samples taken, or in 83% of samples infested by mites. Predators were found in 19 samples (25.6%).

Ninety five percent of samples from brick stores, 50% from hangars and 63% from silos were infested by mites. Altogether 18 species of mites were found. The most common species was *L. destructor*, found in 33 samples (44.6%), *T. interruptus* in 16 (21.6%), and each of *A. siro* and *C. eruditus* were found in 12 samples (16.2%). Whereas *L. destructor* and *T. interruptus* were equally frequent in brick stores and in silos, *C. eruditus* was more common in silos.

In 1965, 27 samples of barley were collected in which 11 species of mites were found. The most common species was again *L. destructor*, found in 14 samples, i.e. in 52%, *T. putrescentiae* and *G. domesticus* found in 6 samples, i.e. 22%.

To compare the faunistic results of 1965 and 1996, one can see that the most common species *L. destructor* was the same, even though the infestation was a little higher in 1965 (52%) than in 1996 (44.6%). But the next two common species differ. Whereas in 1965 these belonged to acaroid pests, in 1996 they were the fungi and dust feeder *T. interruptus* and a predator, *C. eruditus*. I think it can mean the same as in the case of wheat: the grain now has a lower moisture content and more dashes and dust.

Sweepings

Out of 70 samples taken, 64 samples contained mites. The most common species were *T. interruptus*, *C. eruditus*, *L. destructor*, *A. siro* and *T. granarius*. Thus, sweepings are certainly a source of infestation and the place where mites can survive the time when the stores are empty.

To summarize: barley was more infested by mites than wheat. The moisture content of both commodities in silos and brick stores was about the same 13–13.6%. Wheat samples from hangars had a higher moisture content than the previous ones, 15.2%. Most common were the acaroid mites *L. destructor* and *A. siro*, the predatory mite *C. eruditus*, and *T. interruptus* which feeds on fungi and grain dust. From the composition of species found we assume that grain stored 30 and 20 years ago had a higher moisture content and less dashes than the grain stored in 1996.

References

- GRIFFITHS D. A. (1964): A revision of the genus *Acarus* L. Bull. Brit. Museum II (6), London: 415–464.
- HUGHES A. M. (1977): The Mites of Stored Food and Houses. London, Minist. Agric. Fish. and Food: 400 pp.
- JOHNSTON E. de, BRUCE W. A. (1965): *Tyrophagus neiswanderi*, a new acarid mite of agricultural importance. Res. Bull. Ohio agric. Exp. Stn. No 977: 1–17.
- ROBERTSON P. L. (1959): A revision of the genus *Tyrophagus*, with a discussion on its taxonomic position in the Acarina. Austr. J. Zool., 7: 146–181.

SAMŠIŇÁK K. (1962): Příspěvek k poznání rodu *Tyrophagus* Oud. Čas. čs. Spol. Ent., 59: 266–280.

SAMŠIŇÁK K. (1966): Die Neuerrichtung der Gattung *Cosmoglyphus* Oud., gleichzeitig ein Beitrag zum Problem der „Copro itch“. Zool. Anz., 176: 27–42.

SOLOMON M. S. (1945): Tyroglyphid mites in stored products. Methods for the study of population density. Ann. Appl. Biol., 33: 71–75.

ZACHVATKIN A. A. (1941): Arachnoidea, Acariens, Tyroglyphides. Fauna de l'U.R.S.S. 6.1. Inst. zool. Acad. Sci. Moscow N.S. No. 28: 475 pp.

ŽDÁRKOVÁ E. (1967): Stored food mites in Czechoslovakia. J. Stored Prod. Res., 3: 155–171.

Received for publication December 8, 1997

Accepted for publication March 30, 1998

Souhrn

ŽDÁRKOVÁ E. (1998): **Současná fauna roztočů v obilních skladech v České republice.** Pl. Protec. Sci., 34: 49–52.

Během roku 1996 byl proveden faunistický průzkum obilních skladů v České republice. Bylo odebráno a zpracováno 112 vzorků pšenice, 74 vzorků ječmene a 70 vzorků smetků. Vlhkost vzorků byla v průměru 13–13,6 %, vyšší (15,2 %) byla zjištěna u vzorků pšenice z hangárů. Vzorky byly odebírány na jaře a na podzim, kdy jsou sklady plné. Bylo zjištěno 32 druhů roztočů. Ječmen byl více napaden roztoči než pšenice. Bylo zjištěno, že smetky jsou zdrojem napadení skladovaných obilnin a jsou úkrytem pro roztoče v době, kdy jsou sklady prázdné (bylo napadeno 90 % vzorků smetků). Nejčastěji se vyskytovaly druhy *Lepidoglyphus destructor*, *Acarus siro*, *Cheyletus eruditus* a *Tydeus interruptus*. Podle druhového složení můžeme usoudit, že obilí skladované před 20 a 30 lety mělo vyšší vlhkost, méně příměsí a prachu než obilí skladované v roce 1996.

skladované obilí; roztoči; faunistika

Contact address:

RNDr. Eva Ždárková, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, odbor rostlinolékařství, 161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká Republika, tel.: + 420 2 330 22 360, fax: + 420 2 365 228, e-mail: Zdarkova@hb.vurv.cz

Rezistence hlohů ke spále růžovitých rostlin*

Josef KORBA, Světluše PATÁKOVÁ, Václav KÚDELA

Research Institute of Crop Production, Prague-Ruzyně, Czech Republic

Abstract

KORBA J., PATÁKOVÁ S., KÚDELA V. (1998): Fire blight resistance in hawthorns. Pl. Protect. Sci., 34: 53–58.

Since the first appearance of fire blight in Bohemia in 1986, shrubs and trees of the genus *Crataegus* act as the most important hosts of the blight organism *Erwinia amylovora*. Field observation of outbreaks of fire blight on hawthorn shrubs and trees in 1994–1996 showed a wide individual variability in reaction. Susceptible and very susceptible plants were prevalent among wild hawthorns. Seedlings growing under the relatively resistant and susceptible hawthorn shrubs were removed and transplanted to the experimental plot. Seed samples were collected from non-infected solitary plants adjacent to those showing severe infection. The seeds were germinated in the greenhouse and one year old seedlings established from the seed were inoculated. Shoot tops were cut off using scissors immersed in an *Erwinia amylovora* suspension of approximately 10^9 cells/ml. A drop of inoculum was placed on wounded tissues. The degree of resistance was scored 30 days after inoculation by measuring the total length of the shoots and the visually blighted part. The majority of 63 seedlings tested were susceptible. No distinct difference in susceptibility was found between plants grown from seeds from naturally infected and from non-infected shrubs. Only one seedling was highly resistant. Its high level of resistance was confirmed by repeated inoculations (34 times) during three growing seasons in 1995–1997. The resistant seedling was identified as *C. monogyna* Jacq. having some characteristics of *C. laevigata* (Poiret) DC.

Erwinia amylovora; *Crataegus*; resistance

Souhrn

KORBA J., PATÁKOVÁ S., KÚDELA V. (1998): Rezistence hlohů ke spále růžovitých rostlin. Pl. Protect. Sci., 34: 53–58.

Od prvního výskytu spály na území Čech v roce 1986 jsou keře a stromy rodu *Crataegus* nejdůležitějšími hostitelskými rostlinami původce spály růžovitých rostlin, *Erwinia amylovora*. V letech 1994–1996 byla na dvou stanovištích v západních a středních Čechách sledována variabilita v náchylnosti planě rostoucích hlohů vůči spále. V populaci planě rostoucích hlohů převládaly náchylné a velmi náchylné rostliny. Pod relativně rezistentními a náchylnými rostlinami byly odebrány semenáčky, u nichž byla v technickém izolátoru stanovena hladina rezistence. Z neifikovaných soliterních rostlin sousedících s rostlinami silně napadenými byly odebrány plody a ze semen vypěstovány semenáčky, které byly ve stáří jednoho roku inokulovány. Letorosty jednotlivých semenáčků byly inokulovány odstrižením vrcholů nůžkami namočenými v suspenzi bakterie *Erwinia amylovora* o koncentraci 10^9 buněk/ml. Na řeznou plochu byla poté nanášena kapka inokula. Za 30 dní byla stanovena hladina rezistence podle poměru celkové délky inokulovaných letorostů k délce spalové léze. Z celkového počtu 63 testovaných semenáčků byla většina náchylná. Mezi semenáčky ze semen pocházejících z rostlin, které v podmínkách přirozené infekce byly relativně rezistentní nebo naopak náchylné, nebyly zjištěny v hladině rezistence výrazné rozdíly. Z 63 testovaných semenáčků pouze jeden vykazoval vysokou hladinu rezistence, která byla v průběhu let (1995–1997) potvrzena inokulacemi opakovanými v různých termínech celkem 34krát. Rezistentní semenáček byl identifikován jako *Crataegus monogyna* Jacq. se znaky *C. laevigata* (Poiret) DC.

Erwinia amylovora; *Crataegus*; rezistence

Původce spály růžovitých rostlin, bakterie *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. (dále jen *Ea*), byl poprvé zaznamenán na území Čech a Moravy v roce 1986, a to na rostlinách skalníku a hlohu v parcích města Prahy

(KÚDELA 1988). V následujících třech letech se patogen šířil hlavně ve středočeské a severočeské oblasti, později pronikl i do východních Čech. V roce 1996 byla spála zjištěna na severní Moravě.

*Práce byla subvencována grantovou agenturou ČR (č. projektu 513/94/1521).

V ČR se většina prokázaných výskytů spály týká hlohů (85–90 %), zbytek připadá na skalníky, hrušně, jabloně, hlohyně, jeřáby (zejména *Sorbus aria*), kdouloně, mišpuli a kdoulovec.

Po 11 letech od proniknutí původce spály růžovitých rostlin (dále jen spála) na území ČR se potvrzuje zkušenost nabytá v zemích severozápadní Evropy s delší tradicí výskytu choroby, že pro přežívání bakterií z jedné vegetace do druhé bude mít i v našich podmínkách největší význam hloh. Infikované stromy a keře hlohu jsou hlavním zdrojem inokula, odkud se může nákaza snadno rozšířit do produkčních výsadeb jabloní a hrušní. Ve snaze zabránit šíření nákazy bylo v ČR do roku 1997 vyloučeno více než 25 tisíc hlohů, 5 tisíc jabloní, 15 tisíc hrušní, 3 tisíce jeřábů, stovky rostlin skalníků a několik jedinců kdoulovice a hlohyně.

Předložená práce shrnuje výsledky výzkumu, jehož cílem bylo: 1. sledovat ve volné přírodě četnost rostlin hlohu náchylných a rezistentních k napadení bakteriemi *Ea* v podmínkách přirozené infekce; 2. selekce rezistentních rostlin hlohů v podmínkách umělé infekce; 3. posouzení možnosti introdukce rezistentních genotypů hlohů do volné přírody.

MATERIÁL A METODY

Pozorovací stanoviště

První pozorovací stanoviště se nacházelo v katastru obce Tuchoměřice (okres Praha-západ). V průběhu let 1994 až 1996 bylo pětkrát za vegetace sledováno 35 keřů hlohu nacházejících se jako přirozený nálet na jižní straně v blízkosti zastavěné plochy.

Druhé pozorovací stanoviště bylo v katastru obce Kostrčany (okres Karlovy Vary). V průběhu let 1994–1996 bylo sledováno 15 keřů hlohu rozmístěných na svahovité pastvině uprostřed lesního komplexu.

Rostlinný materiál

V roce 1993 byly z obou pozorovacích stanovišť přeneseny mladé semenáče planě rostoucích hlohů a vysázeny do technického izolátoru na výzkumné stanici VÚRV ve Slaném. Při výběru semenáčků se vycházelo ze stupně napadení mateřské rostliny spálou, s cílem ověřit rezistenci k patogenu v potomstvu rezistentních a náchylných rostlin. V následujícím roce byly mladé rostliny dopěstovány a připraveny k testování na rezistenci ke spále. Z obou stanovišť bylo odebráno celkem 18 keřů, které byly vysázeny do sponu 1×1 m.

V roce 1994 byly na lokalitě Tuchoměřice vybrány tři keře lišící se stupněm napadení spálou v podmínkách přirozené infekce. Keř č. 5 byl hodnocen jako náchylný. Z náchylných keřů rostoucích na tomto stanovišti byl vybrán proto, že byl napaden spálou jen v horní třetině koruny a měl dostatek zdravých plodů s vyzrálými semeny. Zbývající vybrané keře (č. 10 a 28) byly hodnoceny jako

rezistentní. Vyznačovaly se tmavě zelenou barvou listů a bohatou násadou plodů. Pro keř č. 28 byly typické krátké, relativně tlustší internodia. V září 1994 byly z uvedených tří keřů hlohu sklizeny plody a provedena stratifikace semen.

V roce 1996 byla stratifikovaná semena vyseta a po vzejití nahrnkována do květináčů o průměru 8 cm. Po dosažení délky výhonu 10 cm byly rostliny přeneseny do pěstební místnosti, kde byla udržována teplota 20–22 °C a relativní vlhkost 80–85 %. Zde byly rostliny dopěstovány do délky výhonů 15–20 cm, tj. do růstové fáze, která je vhodná pro inokulaci bakteriemi *Ea*.

V roce 1997 byly z vybraných rostlin hlohu, které při umělých infekcích prokázaly vysokou hladinu rezistence, odebrány rouby a naroubovány na hlohový semenáč. Roubovance byly pak vystaveny umělým infekcím.

Inokulum

K testování na rezistenci byly použity izoláty *Ea* udržované ve sbírce oddělení bakteriologie odboru rostlinolékařství VÚRV Praha-Ruzyně a kmeny udržované na výzkumné stanici ve Slaném. Před zahájením sezony byla u všech izolátů testem patogenity určena jejich virulence. K inokulaci byly vybrány 3–4 nejvirulentnější izoláty. K ověření stupně virulence byly použity jednak letorosty hrušně *Pyrus ussuriensis*, jednak odřezané letorosty hlohu. Vybrané 3–4 nejvirulentnější kmeny *Ea* byly kultivovány na masopeptonovém agaru. Z kultur starých 48 hodin byla ve sterilní destilované vodě připravena suspenze o hustotě 10⁹ buněk/ml.

Inokulace

Semenáčky přinesené z pozorovacích stanovišť a vysázené v technickém izolátoru byly pětkrát během vegetačního období infikovány. Každá rostlina byla inokulována směsí spálových bakterií. Celkem bylo inokulováno v roce 1994 14 rostlin a v letech 1995 a 1996 18 rostlin. Když letorosty ve fázi prodlužovacího růstu dosáhly délky 30–50 cm, byly inokulovány odstřížením růstového vrcholu nůžkami namočenými v inokulu a následným nanášením kapky bakteriální suspenze na řeznou plochu.

Inokulace semenáčků pěstovaných v květináčích v pěstební místnosti byla provedena během prodlužovacího růstu při dosažení délky výhonů 15–20 cm. Do pokusu byly zařazeny rostliny hlohu z keře č. 5 (náchylného) a z keřů č. 10 a č. 28 (rezistentních). Letorosty byly před dokončením prodlužovacího růstu, tj. v období před vytvořením vrcholového pupenu, zastříženy nůžkami namočenými v bakteriální suspenzi. Na poraněné místo byla nanášena kapka bakteriální suspenze. Inokulace byla provedena 18. 9. 1996 v místnosti s umělým osvětlením (4 500 luxů) při teplotě 20–22 °C a relativní vlhkosti 85 %. Třicet dní od inokulace byla hodnocena hladina rezistence podle poměru celkové délky letorostů k délce spálové léze.

Hodnocení intenzity spály a rezistence rostlin

Při hodnocení intenzity výskytu spály u keřů hlohu na pozorovacích stanovištích byla použita desetibodová stupnice založená na hodnocení podílu spálových výhonů z celkového počtu výhonů:

0 = bez příznaků; 1 = 1–3 %; 2 = 4–6 %; 3 = 7–12 %; 4 = 13–25 %; 5 = 26–50 %; 6 = 51–75 %; 7 = 76–88 %; 8 = 89–99 %; 9 = 100 %.

K hodnocení hladiny rezistence semenáčků přinesených z pozorovacích stanovišť a vysázených v technickém izolátoru byla použita třibodová stupnice:

1 = rezistentní – bez příznaků spály;

2 = náchylný (spála letorostů, nákaza neproniká do jednoletého dřeva);

3 = velmi náchylný (spála letorostů, nákaza proniká do jednoletého dřeva).

U inokulovaných semenáčků vypěstovaných ze semen se měřila délka spálové léze způsobená patogenem a celková délka výhonu. Po 30 dnech, kdy se již léze neprodužovala, se přikročilo k závěrečnému hodnocení změřením délky viditelné bakteriální léze a celkové délky letorostu v cm. Pro výpočet procenta intenzity napadení byl použit následující vzorec:

$$\text{Intenzita napadení v \%} = \frac{\text{délka léze v cm}}{\text{délka letorostu v cm}} \times 100$$

Vypočtená intenzita napadení byla poté převedena do pětibodové hodnotící stupnice stupněm rezistence:

Intenzita napadení v %**Stupeň rezistence**

0

1 – velmi rezistentní

1–6

2 – rezistentní

7–25

3 – středně rezistentní

26–75

4 – náchylný

76–100

5 – velmi náchylný

VÝSLEDKY**Četnost rezistentních rostlin hlohu v podmínkách přirozené infekce**

Na pozorovacím stanovišti v katastru obce Tuchoměřice (Praha-západ) bylo v průběhu let 1994–1996 sledováno napadení spálou u 35 keřů hlohu (tab. 1). V průběhu tříletého sledování se postupně zvyšovala četnost výskytu spály i intenzita choroby. Z celkového počtu 35 keřů hlohu bylo v roce 1994 napadeno 40 % keřů, v roce 1995 74 % a v roce 1996 97 %. Zároveň se zvyšovala i intenzita choroby, a to z 1,14 v roce 1994 na 2,51 v roce 1995 a na 4,37 v roce 1996. V průběhu tří let úplně odumřely tři keře. U napadených keřů bylo možné pozorovat menší intenzitu kvetení a menší počet plodů.

Jediný keř hlohu (č. 28), který po třech letech sledování nevykazoval příznaky spály, se vyznačoval tmavě zelenými listy, bočními žilkami na bázi listů prohnutými

Tab.1. Stupeň napadení spálou 35 rostlin hlohu na stanovišti Tuchoměřice (Praha-východ) v letech 1994–1996 – Disease severity of fire blight in an individual hawthorn plants on locality of Tuchoměřice (Prague-east) in 1994–1996

(0 = without disease symptoms; 9 = the most severe disease symptoms)

Číslo keře ¹	Stupeň napadení ²			Číslo keře	Stupeň napadení			Číslo keře	Stupeň napadení		
	1994	1995	1996		1994	1995	1996		1994	1995	1996
1	4	7	9	13	0	2	4	25	0	4	7
2	2	4	6	14	0	0	2	26	1	2	3
3	0	4	7	15	1	2	4	27	0	2	2
4	0	0	3	16	0	0	2	28	0	0	0
5	4	5	7	17	0	4	4	29	0	0	1
6	0	2	9	18	0	2	4	30	0	1	1
7	3	5	7	19	1	2	2	31	2	3	6
8	1	4	6	20	0	2	4	32	4	6	8
9	0	1	3	21	0	1	4	33	4	5	9
10	0	0	1	22	2	3	4	34	6	6	8
11	0	1	3	23	0	0	1	35	5	8	8
12	0	0	2	24	0	0	2	1–35	1,14	2,51	4,37

¹number of shrub; ²index of disease severity

nahoru a končícími na okraji čepele, která je drobně zoubkovaná; menší četností krátkých trnů; pozdějším kvetením; bílými květy, úzce trojúhelníkovitými, středně dlouhými kališními lístky; temně červenými, mírně elipsoidními malvicemi. Tento keř odolávající infekci vykazuje znaky kříženců *Crataegus monogyna* × *C. laevigata*.

Keř č. 10 odolával infekci až do roku 1996, kdy byly zaznamenány první příznaky napadení. Podobně jako keř č. 28 vykazoval i keř č. 10 znaky kříženců *Crataegus monogyna* × *C. laevigata*. Keř č. 10 se lišil delšími a tenčími internodiemi.

Náchylný keř č. 5 se vyznačoval světle zelenými až zelenými listy; bočními žilkami na bázi čepele nekončícími na okraji čepele; ranějším kvetením, bílými květy; úzce válcovitým kalichem s krátkými kališními cípky, červenými mírně podlouhlými malvicemi s jednou pecičkou. Je možné ho považovat za křížence *Crataegus fallacina* × *C. monogyna*.

Na pozorovacím stanovišti v katastru obce Kostrčany (okres Karlovy Vary) bylo sledování v roce 1995 předčasně ukončeno z důvodů vykloučení infikovaných keřů.

Reakce semenáčků hlohu na umělou infekci

Semenáčky přenesené z pozorovacích stanovišť

Z 18 testovaných rostlin byla jedna rostlina hodnocena jako rezistentní, devět rostlin bylo náchylných a osm rostlin velmi náchylných (tab. 2). Rezistentní rostlina č. 6 (=Valeč-94) pocházela z lokality Kostrčany.

Tab. 2. Testování semenáčků hlohu na rezistenci k *Erwinia amylovora* po přenesení z přirozených stanovišť – Greenhouse testing of hawthorn seedlings after transferring from natural stands

Stupeň rezistence ¹	Celkem rostlin ⁵	Označení rostlin ⁶
1. rezistentní ²	1	6
2. náchylný ³	9	1, 3, 4, 7, 10, 11, 12, 13, 15
3. velmi náchylný ⁴	8	2, 5, 8, 9, 14, 16, 17, 18

¹category of resistant level; ²resistant; ³susceptible; ⁴very susceptible; ⁵number of plants; ⁶plant number

Tab. 3. Testování semenáčků hlohu na rezistenci k *Erwinia amylovora* získaných ze semen sklizených z rostlin s odlišnou hladinou rezistence – Greenhouse testing of hawthorn seedlings from seeds collected from plants with different level of resistance to *Erwinia amylovora*

Původ semen ¹ (viz. tab. 1)	Počet testovaných semenáčků ²	Průměrná intenzita napadení ³ (\bar{x}) ± s
Rostlina č. 28 – rezistentní ⁴	5	17,3 ± 4,6
Rostlina č. 10 – rezistentní ⁵	20	18,0 ± 7,15
Rostlina č. 5 – náchylná ⁶	20	17,3 ± 7,72

¹seed origin; ²number seedlings tested; ³index of disease severity; ⁴plant no. 28 – resistant; ⁵plant no. 10 – resistant; ⁶plant no. 5 – susceptible

V letech 1995–1997 byla rezistentní rostlina č. 6 prodobena opakovanému testování na rezistenci. V roce 1995 bylo na tomto semenáčku provedena inokulace na deseti letorostech. V následném roce 1996 bylo v devíti termínech inokulováno vždy pět letorostů a v roce 1997 bylo ve 24 termínech inokulováno pět letorostů. Ani v jednom případě nevznikly po inokulaci nekrotické léze, zatímco ve stejnou dobu inokulované výhony na náchylných rostlinách vykazovaly typické spálové příznaky.

Podle morfologických znaků tato rezistentní rostlina pravděpodobně patří ke křížencům typu *C. monogyna*. Listy mají na bázi čepele spodní pár bočních žilek směřující nahoru ukončen na okraji listů. Okraje listů jsou mírně zoubkované, palisty mírně hřebenité, zubaté.

Semenáčky pěstované v pěstební místnosti

Výsledky testování jsou shrnuty v tab. 3. Celkově bylo testováno 45 semenáčků. Pocházely ze semen sklizených jednak s obou rostlin hlohu, které v přirozených podmínkách byly hodnoceny jako rezistentní, jednak z rostliny, která byla hodnocena jako středně náchylná.

Reakce roubovanců na umělou infekci

Výhony z rezistentní rostliny č. 6 (= Valeč-94) byly naroubovány na hlohový semenáč. Na roubovancích byla v roce 1997 provedena inokulace letorostů. Na žádném z inokulovaných letorostů nevznikly spálové léze. Naproti tomu na letorostech roubovanců vzniklých naroubováním výhonů z rostliny č. 28 (tab. 1) na hlohový semenáč byly zaznamenány spálové léze v délce 4–6 cm. Tím byla opětovně potvrzena vysoká hladina rezistence hlohu č. 6.

DISKUSE

Poté, co původce spály v letech 1957–1980 zdomácněl v jihovýchodní Anglii, v západní a severní Evropě, se ukázalo, že rostliny hlohu, především druhu *Crataegus monogyna*, jsou hlavním prostředníkem umožňujícím šíření nákazy do dosud nezamořených území. Jsou také důležitým zdrojem infekce pro ostatní hostitelské rostliny (BILLING et al. 1974; STEAD 1987).

Podobně jako v západní Evropě i v českých zemích jsou hlohy velmi četně zastoupeny. Jak uvádí HOLUB (1992), jsou našimi základními druhy *C. laevigata*, *C. monogyna* a *C. praemonticola*. Hojnější než čisté druhy jsou kříženci mezi těmito základními druhy. Křížení probíhá i mezi hybridy základních druhů a dále mezi těmito hybridy. Rozlišování těchto mnohonásobných kříženců je obtížné a u některých kombinací nemožné. Pro ozdobu se pěstují u nás mnohé druhy amerického původu. Na ulicích a v parcích byly hojně vysazovány červenokvěté kultivary našich druhů rozmnožované očkovaním.

Program šlechtění hlohů na rezistenci ke spále byl zahájen v Dánsku v roce 1970 (JORGENSEN, JENSEN 1974), v Nizozemsku a Německu v roce 1975 (ZELLER, MEYER 1975; BOUMA 1987) a ve Francii v 80. letech (PAULIN 1993).

Rostliny hlohu vypěstované ze semen sbíraných z keřů identifikovaných jako *C. monogyna* subsp. *laciniata* byly po umělé infekci *Erwinia amylovora* hodnoceny buď jako náchylné, nebo velmi náchylné. Náchylnost rostlin *C. laevigata* kolísala od rezistence přes střední až po vysokou náchylnost. Populace rostlin *C. monogyna* získaná ze semen pocházející z Polska, Itálie, Dánska a Velké Británie se nelišily v hladině náchylnosti. Nebyla prokázána korelace mezi určitými morfologickými vlastnostmi *C. monogyna* a genetickou náchylností ke spále (MAAS GEESTERANUS, HEYTING 1978). Stojí za pozornost, že autoři vyjádřili pochybnost, zda údaje o poměru délky vadnoucích výhonů k celkové délce inokulovaných výhonů jsou vhodným ukazatelem pro stanovení genetické rezistence hlohů ke spále.

BOUMA (1987) shromáždil z území bývalého Sovětského svazu a dalších států východní Evropy okolo 580 vzorků semen patřících k 155 různým druhům rodu *Crataegus*. Výhony semenáčků inokuloval suspenzí bakterií *Erwinia amylovora*. Populace *C. monogyna* se jevily být všechny náchylné. Naproti tomu semenáčky *C. phaenopyrum* nevykazovaly žádné příznaky. Rezistentní druh *C. phaenopyrum* se vyskytuje v Severní Americe. Svými malými listy s velkými trny připomíná *C. monogyna*. Druhy *C. arnoldiana*, *C. chrysocarpa*, *C. mollis* a *C. submollis* měly střední až „dobrou“ rezistenci. Na rozdíl od výsledků, které publikovali MAAS GEESTERANUS a HEYTING (1978), byly zjištěny v rámci jednoho druhu prokazatelné rozdíly v rezistenci v závislosti na geografickém původu.

ZWEIT A BEER (1991) zařadili mezi nejvíce rezistentní druhy *C. arnoldiana*, *C. coccinea*, *C. crus-galli*, *C. douglasii*, *C. phaenopyrum*, *C. prunifolia*, *C. punctata* Ohio Pioneer, *C. viridis* Winter King; mezi středně rezistentní *C. lavalleyi carrierei*; mezi nejméně rezistentní *C. alemanensis*, *C. monogyna*, *C. laevigata* a *C. pentagyna*.

V našich zemích převládají planě rostoucí druhy hlohů patřící ke křížencům druhů *C. monogyna* a *C. laevigata* a *C. praemonticola* (HOLUB 1992). Z dosud uskutečněných polních pozorování v ČR i v jiných zemích, jakož

i z výsledků testování na rezistenci v podmínkách umělé infekce vyplývá, že *C. monogyna* a *C. laevigata* patří k relativně nejnáchylnějším hlohům k původci spály. Tím naléhavěji vystupuje do popředí otázka způsobu náhrady těchto náchylných hlohů ve volné přírodě v územích ohrožených epidemiemi spály. Přestože v populaci u nás divoce rostoucích hlohů převládají náchylné a velmi náchylné rostliny, vyskytují se v ní i rezistentní rostliny. Svědčí o tom úspěšná selekce rostliny taxonomicky blízké s druhem *C. monogyna*, která ani po několikanásobné inokulaci letorostů nevykázala žádné příznaky infekce. V případě naléhavé potřeby výsadby rezistentních hlohů do volné přírody bude nutné pátrat po dalších zdrojích rezistence k původci spály, a to jak v rámci druhu *C. monogyna*, tak i dalších druhů a kříženců.

V našich infekčních testech nebyl zjištěn rozdíl v hladině rezistence u generativního potomstva rostlin pocházejících z hlohů, které byly v přirozených podmínkách infekce hodnoceny jako rezistentní a náchylné. Důvod lze spatřovat buď v tom, že absence příznaků u některých rostlin ve volné přírodě nebyla způsobena genetikou podmíněnou rezistencí, ale např. tzv. pseudorezistencí (únikem před chorobou) nebo tím, že vykazují určitý typ preinfekční rezistence (podmíněný např. vysokou četností antagonistických epifytických mikroorganismů), který se při umělé infekci nemohl uplatnit.

Důležitou úlohou bude ověřit, zda rezistence ke spále letorostů je u hlohů ve vazbě s rezistencí ke spále květů a korových pletiv. U jabloní a hrušní jsou totiž známé případy, kdy se různá hladina rezistence u květů, výhonů a korových pletiv (ZWET, KEIL 1970).

Poděkování

Autoři děkují Grantové agentuře České republiky za vytvoření podmínek pro započetí dlouhodobého projektu na řešení rezistence ke spále růžovitých rostlin u okrasných dřevin.

Literatura

- BILLING E., BECH-ANDERSEN J., LELLIOT R. A. (1974): Fire blight in hawthorn in England and Denmark. *Pl. Path.*, 23: 141–143.
- BOUMA A. S. (1987): Breeding woody ornamentals for fire blight resistance. *Acta Horticulturae*, 217: 293–297.
- HOLUB J. (1992): *Crataegus* L. – hloh. In: Květena České republiky 3. Praha, Academia: 488–525.
- JORGENSEN H. A., JENSEN A. (1974): Susceptibility of different host plants and survival of fireblight. In: 19th Int. Hort. Cong. Proc., 1A: 204.
- KÚDELA V. (1988): *Erwinia amylovora*, původce spály růžovitých rostlin v Československu. *Ochr. Rostl.*, 24: 173–182.
- MAAS GEESTERANUS H. P., HEYTING J. (1978): Studies on the susceptibility of *Crataegus* species to *Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow et al. In: Proc. 4th Int. Conf. Plant Pat. Bact. Angers, August 27th–September 2nd, Vol. II: 499–504.

PAULIN J. P. (1993): Susceptibility of *Crataegus* species to fire blight. *Acta Horticulturae.*, 338: 421–427.

STEAD D. E. (1987): A brief review of the status of fire blight in the U. K. OEPP/ EPPO Bull., 17: 219–222.

ZELLER W., MEYER, J. (1975): Untersuchungen zur Feuerbrandkrankheit in der BRD. 1. Krankheitsverlauf von Obst- und Ziergeholzen nach natürlichen Befall und künstlicher Inokulation. *Nachr.-Bl. Dtsch. Pfl.-Schutzdienst Braunschweig*, 27: 161–169.

ZWET T. van der, BEER S.V. (1991): Fire Blight – Its Nature, Prevention, and Control: A Practical Guide to Integrated Disease Management. U. S. Department of Agriculture. Agric. Inform. Bul., No. 631: 83 pp.

ZWET T. van der, KEIL H. I. (1970): Relative susceptibility of succulent and woody tissue of Mages pear to infection by *Erwinia amylovora*. *Phytopathology*, 60: 593–595.

Došlo 10. 2. 1998

Přijato k publikaci 14. 5. 1998

Kontaktní adresa:

Ing. Josef K o r b a, Výzkumný ústav rostlinné výroby, odbor rostlinolékařství, 161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika, tel./fax: + 420 314 52 26 75

SHORT COMMUNICATION

KRÁTKÉ SDĚLENÍ

Determination of Optimal Concentration of *Erwinia amylovora* and *Pantoea agglomerans* Antigens in the Slide Agglutination Reaction

Iveta PÁNKOVÁ, Ivan MRÁZ¹, Karel PETRZIK¹

Research Institute of Crop Production – Division of Plant Medicine, Prague-Ruzyně; ¹Institute of Plant Molecular Biology, Academy of Sciences of the Czech Republic, České Budějovice, Czech Republic

Abstract

PÁNKOVÁ I., MRÁZ I., PETRZIK K. (1998): **Determination of optimal concentration of *Erwinia amylovora* and *Pantoea agglomerans* antigens in the slide agglutination reaction.** Pl. Protec. Sci., 34: 59–62.

The optimal concentration of *Erwinia amylovora* and *Pantoea agglomerans* bacteria used as antigens in a slide agglutination reaction with constant diluted antisera was examined. The clearest agglutination reaction of both bacteria was observed in a wide range of antisera titers if the antigen concentration ranged from 1.10^9 to 1.10^{10} CFU/ml. This work finalizes our previous work to develop a method of detection of *E. amylovora* and *Pantoea agglomerans* bacteria by the slide agglutination test.

antigen; concentration of antigen; antiserum; agglutination test; *Erwinia amylovora*; *Pantoea agglomerans*; CFU/ml

Erwinia amylovora (Burrill) Winslow, Buchanan, Krumwiede, Rogers et Smith 1920 is considered to be one of the most dangerous phytopathogenic microorganisms. It causes fire blight of rosaceous plants, and has a high epidemiological potential with a large variety of harmful effects on a wide range of host plants (ZWET, KEIL 1979). *E. amylovora* belongs to the quarantine bacterial organisms in the European Union and in the Czech Republic (SMITH et al. 1997).

The development of a rapid, inexpensive and reliable determination method of *E. amylovora* was necessary after the pathogen had spread to the Czech Republic in the late eighties (KÚDELA 1988).

The saprophytic (non-pathogenic) *Pantoea agglomerans* (Beijerinck 1888) Gavini et al. 1989 bacteria have in temperatures higher than 24 °C the same physiological characteristics as *E. amylovora* and both are often found together in areas where the fire blight disease of *Rosa-ceae* occurs. Therefore, *Pantoea agglomerans* bacteria are supposed to be the best potential antagonists of *E. amylovora* (KÚDELA 1990).

The aim of this work was to determine the optimal dilution of *E. amylovora* and *Pantoea agglomerans* bacteria used as antigens for the best observation of the slide agglutination reaction.

E. amylovora isolates were obtained from different host plants (hawthorn, pear) at localities of western and central Bohemia (districts Louny, Chomutov, Kutná Hora, Kolín and Prague). *Pantoea agglomerans* isolates were obtained from hawthorn in Prague and Slaný.

E. amylovora antisera were prepared by immunization of rabbits with antigens treated by phenol or by heating. Antigens were injected without or in mixture with adjuvant (Al-span-oil, two-component, ÚSOL Praha) intramuscularly and subcutaneously in 2–5 injections in doses of 1–3 ml in 1–2 week intervals as described previously (CALZOLARI et al. 1982; LAROCHE, VERHOYEN 1986; MRÁZ 1992). *Pantoea agglomerans* antisera were prepared against antigens treated by formaldehyde. Two doses of antigen (1 and 2 ml) were injected subcutaneously without adjuvant in interval of 2 weeks (CALZOLARI et al. 1982; DICKEY et al. 1984).

The *E. amylovora* and *Pantoea agglomerans* bacterial isolates used as antigens were cultivated 24 hours at 27 °C in yeast-extract-dextrose-CaCO₃ (YDC) medium (DAVIS 1979; LELLIOTT, DICKEY 1984). The cultivated bacteria from five Petri dishes were washed by 10 ml of 0.85% NaCl (pH 7.2) and series of dilutions from 10¹⁰ CFU/ml (colony forming units/ml) to 10⁶ CFU/ml were prepared.

The bacterial suspensions used in agglutination tests were treated by methods identical to those on antigens used for immunization.

Nine *E. amylovora* and five *Pantoea agglomerans* antisera were prepared and diluted to the titer in which cross reactions with the other phytopathogenic bacteria did not occur.

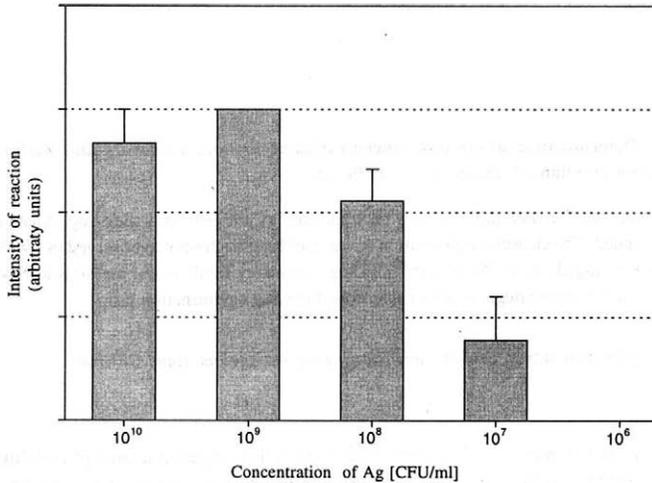
The concentration 10⁹ CFU/ml of *E. amylovora* antigen gave the most intensive and most rapid agglutination reaction in all titres of antisera (Fig. 1). The rapidity and

intensity of the reaction decreased with 10⁸ CFU/ml, and none of the antisera reacted with antigen at a concentration of 10⁶ CFU/ml. Most antisera produced a less intensive reaction if the concentration 10¹⁰ CFU/ml was used.

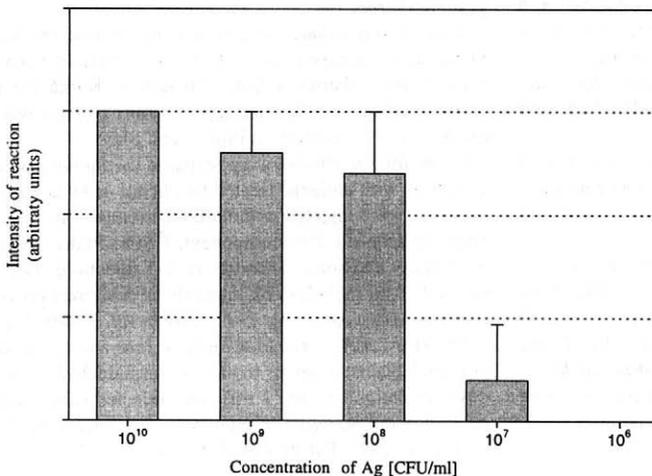
In contrast to *E. amylovora*, all *Pantoea agglomerans* antisera reacted strongly with the homologous antigen in the concentration 10¹⁰ CFU/ml, and the reaction with 10⁹-10⁸ CFU/ml was only slightly less intensive (Fig. 2). On the other hand, only half of the tested antisera reacted with antigen of the concentration 10⁷ CFU/ml.

We recommended dilution of antigens in the range 10⁹-10⁸ CFU/ml for routine determination of both bacteria. Antisera of various quality (titer 1 : 32 to 1 : 512) gave a reliable positive signal in this range (Table 1).

We tested the influence of different ways of antigen preparation on the quality of antisera and on the following agglutination reaction (Table 1). No significant differen-



1. Agglutination reaction of *E. amylovora*. Mean value of nine tests with standard deviation are marked



2. Agglutination reaction of *Pantoea agglomerans*. Mean value of five tests with standard deviation are marked

Table 1. Agglutination reaction of *E. amylovora* and *Pantoea agglomerans* antisera with antigens in dilution series

As	Ag	Treatment of Ag by	Titer of As	Concentration of Ag (CFU/ml)				
				10 ¹⁰	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶
Ea 14	Ea 531	heating	1 : 384	+++	+++	++	+	–
Ea 20	Ea 531	heating	1 : 384	+++	+++	++	+	–
Ea 22	Ea 502	phenol	1 : 256	+++	+++	++	+	–
Ea 24	Ea 0802	phenol	1 : 256	++	+++	+++	+	–
Ea 26	Ea 6	phenol	1 : 256	+++	+++	++	–	–
Ea 15	Ea 531	heating	1 : 128	++	+++	++	+	–
Ea 21	Ea 531	heating	1 : 128	++	+++	++	+	–
Ea 13	Ea 531	heating	1 : 32	+++	+++	++	+	–
Ea 25	Ea 0802	phenol	1 : 32	+++	+++	++	+	–
Pa 014	Pa IHFP2/1	formaldehyde	1 : 512	+++	+++	+++	–	–
Pa 011	Pa IHPC6/10	formaldehyde	1 : 256	+++	++	++	+	–
Pa 012	Pa HV 40	formaldehyde	1 : 256	+++	+++	+++	–	–
Pa 013	Pa IHPB/1	formaldehyde	1 : 128	+++	+++	+++	+	–
Pa 015	PaPB6/2	formaldehyde	1 : 32	+++	++	+	–	–

As – antiserum; Ag – antigene; Ea – *Erwinia amylovora*; Pa – *Pantoea agglomerans*
intensity of reaction marked in three level scale (+, ++, +++, –)

ces were observed between phenol-, formaldehyde- or heat-treated antigens.

At this time the method used most often for determination of bacterial pathogens is ELISA (DEWEY et al. 1991) which is more sensitive than the agglutination test (it allows to detect bacteria in a concentration of 10⁴–10⁶ cells per ml). The control of the optimum ratio of antigen and antiserum should be used on each plate (WILKINSON et al. 1992; WYATT 1992). Although the ELISA kits are available, the agglutination reaction with homologous antiserum is still the most rapid, reliable and simple determination method of *E. amylovora* (VANTOMME et al. 1982).

Literature

CALZOLARI A., PEDDES P., MAZZUCCHI U., MORT P., GARZENA C. (1982): Occurrence of *Erwinia amylovora* in buds of asymptomatic apple plants in commerce. *Phytopath. Z.*, 103: 156–162.

DAVIS R. E. (1979): *Spiroplasmas*: Newly Recognized Arthropod-Borne Pathogens. In: MARAMOROSCH K., HARRIS K. F. (Eds.): *Leafhopper Vectors and Plant Disease Agents*. New York, Academic Press: 141–448.

DEWEY M., EVANS D., COLEMAN J., PRIESTLEY R., HULL R., HORSLEY D., HAWES C. (1991): Antibodies in plant science. *Acta Bot. Neerlandica*, 40 (1): 1–27.

DICKEY R. S., ZUMOFF C. H., UYEMOTO J. K. (1984): *Erwinia chrysanthemi*: Serological relationships among strains from several hosts. *Phytopathology*, 74: 1388–1394.

KÚDELA V. (1988): *Erwinia amylovora* – causal agent of fire blight on rosaceous plants in Czechoslovakia. *Ochr. Rostl.*, 24: 173–182.

KÚDELA V. (1990): *Fire Blight*. MZVŽ ČSR, České Budějovice, Věstavnictví zemědělství a výživy: 163 pp.

LAROCHE M., VERHOYEN M. (1986): The search for a specific antigen for *Erwinia amylovora*. *Phytopathology*, 116: 269–277.

LELLIOTT R. A., DICKEY R. S. (1984): Genus VII. *Erwinia*. In: KRIEG N. R., HOLT J. G. (Eds.): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 1. Baltimore, The Williams and Wilkins Co.: 469–476.

MRÁZ I. (1992): Preparation of specific antibodies for detection of *Erwinia amylovora* bacteria. *Ochr. Rostl.*, 28: 273–281.

SMITH I. M., McNAMARA D. G., SCOTT P. R., HOLDERNESS M., BURGER B. (1997): Strawberry Vein Banding Virus. In: *Quarantine Pests for Europe*. CAB Int. Cambridge, UK, Univ. Press: 1353–1356.

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

WILKINSON A. P., WARD C. M., MORGAN M. R. A. (1992): Immunological Analysis of Mycotoxins. In: *Modern Methods of Plant Analysis*. Vol. 13, Berlin, Springer-Verlag: 185–225.

WYATT G. M. (1992): Immunoassays for food-poisoning bacteria and bacteria toxins. London, U.K., Chapman and Hall (ISBN 0-412-408104).

ZWET T. van der, KEIL H. L. (1979): Fire blight – a bacterial disease of rosaceous plants. *U.S. Dep. Agr. Handb.*, 510: 200 pp.

Received for publication December 22, 1997

Accepted for publication March 3, 1998

Souhrn

PÁNKOVÁ I., MRÁZ I., PETRZIK K. (1998): **Stanovení optimální koncentrace bakterií *Erwinia amylovora* a *Pantoea agglomerans* při sklíčkové aglutinační reakci.** Pl. Protec. Sci., 34: 59–62.

Byla testována optimální koncentrace bakterií *Erwinia amylovora* a *Pantoea agglomerans* použitých jako antigen ve sklíčkové aglutinační reakci. Antiséra byla v reakci použita v konstantním ředění. Nejlépe pozorovatelná aglutinační reakce byla zaznamenána u obou bakterií, pokud se koncentrace antigenu (bakteriální suspenze) pohybovala v rozmezí od $1 \cdot 10^9$ do $1 \cdot 10^{10}$ CFU na 1 ml. Tato práce završuje naši předešlou aktivitu na vývoji sklíčkové aglutinační metody u bakterií *E. amylovora* a *Pantoea agglomerans*.

antigen; koncentrace antigenu; antiserum; aglutinační test; *E. amylovora*; *Pantoea agglomerans*; CFU/ml

Contact address:

Ing. Ivan Mráz, CSc., Ústav molekulární biologie rostlin, Akademie věd České republiky, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Česká republika, tel.: + 420 38 777 55 34, + 420 38 777 55 20, fax: + 420 38 437 50, e-mail: mraz@umbr.cas.cz

OPHIOSTOMA ULMI (Buisson.) Nannf.

Synonyma: *Ceratocystis ulmi* (Buisson) C. Moreau, anamorfa *Graphium ulmi* Schwarz, syn.: *Pesotum ulmi* (Schw.) Crane et Schoknecht

Grafióza jilmů, holandská nemoc jilmů

Národní názvy: anglicky – Dutch elm disease (DED); německy – Ulmenwelke, Ulmensterben; francouzsky – graphiose de l'orme; španělsky – grafiosis de los olmos



1. Chladnoucí a odumřelé větve v koruně napadeného stromu



2. Příčný průřez větvičkou s hnědými koncentrickými skvrnami

Hostitelé: Druhy rodu *Ulmus* – jilm, *Zelkova carpinifolia* (Pall.) K. Koch, břestovec *Celtis australis* L.

V ČR je choroba všeobecně rozšířena po celém území, napadeny a ohroženy jsou všechny tři druhy jilmů – jilm habrolistý, *Ulmus minor* Mill., jilm horský (jilm drsný), *Ulmus glabra* Huds. i jilm vaz, *Ulmus laevis* Pall. Jsou známy údaje o rozdílné toleranci jednotlivých druhů jilmů a o rozdílné citlivosti jedinců stejného druhu vůči grafióze.

Geografické rozšíření: Evropa, Asie, severní Afrika v celém areálu rozšíření rodu *Ulmus* – jilm (prakticky celá severní polokoule).

V České republice po celém území od nížin do hor.

Biologie: Původce grafiózy jilmů je houba *Ophiostoma ulmi*, která pochází z Asie. Od dubna až května ji roznáší podkorní hmyz, především druhy rodu *Scolytus* – bělokaz, ale i další druhy podkorního hmyzu; patogena může v menší míře přenášet i savý a listožravý hmyz i četné druhy živočichů způsobující poranění stromů (datlovití a jiné hmyzožravé ptactvo, drobní hlodavci aj.). Choroba se může šířit kořenovými srůsty a přenosem spor vzduchem jako soprofyt. Houba vniká ranami (požerky hmyzu) do vodivých pletiv a svým podhoubím ucpává cévní svazky. Strom se brání šíření patogena

PUCINIA HORIANA P. Hennings

Bílá rez chryzantémová

Národní názvy: anglicky – White rust; německy – Weisser Chrysanthemenrost; francouzsky – Rouille blanche; španělsky – Roya blanca



1. Silně napadená rostlina chryzantémy



2. Kupy spor na spodní straně listů chryzantémy

Hostitelé: rod *Chrysanthemum* sp.

Geografické rozšíření: Bílá rez chryzantémová pochází z Japonska, odkud byla zavlečena zamořeným rostlinným materiálem až do Evropy. Je široce rozšířena ve Francii a v Německu, slabší výskyt je v Belgii, Bulharsku, Itálii, Nizozemsku, Rakousku, Švédsku, Švýcarsku, Ukrajině, Velké Británii a bývalé Jugoslávii; výskyt rzi je známý také v Dánsku, Maďarsku, Norsku a Polsku.

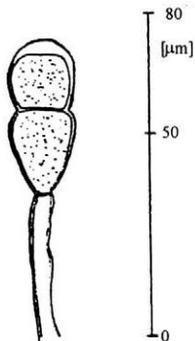
V České republice se rez objevila v roce 1995, ohnisko ve skleníku bylo zlikvidováno.

Biologie: Bílá rez chryzantémová prodělává svůj vývoj na jednom hostiteli, má silně zkrácený životní cyklus. Mycelium je vícebuněčné, vrostlé do napadené tkáně. Rez tvoří dva druhy spor: teliospory, které se tvoří v kupkách naspodu, řídceji na povrchu listů; basidiospory, jimiž se choroba šíří a zakládá se nová infekce. Pro klíčení spor je nezbytná vysoká vzdušná vlhkost a vodní film na povrchu rostlin. Rozmezí teplot pro klíčení a uvolňování spor je 5–23 °C, optimální teplota je 21–23 °C. Pro vytvoření nové infekce je dostačující vysoká vzdušná vlhkost po dobu pouhých 5 hodin. Choroba se po zavlečení do porostu skleníkových chryzantém hubí velmi obtížně a s vysokými finančními náklady.

Hostodářský význam: Rostliny při hromadném napadení zaostávají v růstu, nekvetou nebo vytvářejí nedostatečně vyvinuté květy. Snižuje se estetický vzhled a tržní hodnota květin.

Způsob zavlékání: Přirozené šíření je prakticky reálné pouze mezi blízkými skleníky. Na větší vzdálenosti se choroba přenáší zamořenými řízků nebo rostlinami, včetně řezaných květin.

Determinace: *Symptomy* – Na listech se infekce projevuje mírnými puchýřky na líci a prohlubeninami naspodu listů, které se postupně zvětšují, jejich barva se mění od světlezelené přes světležlutou do hnědé a v posledním stadiu pletivo nekrotizuje. Ve stadiu žluté skvrny vytváří parazit na spodní straně listů kupy spor zpočátku žluté voskové, později bělavé moučné, ke konci vývoje bronzové barvy. Napadení lodyh a květů bylo zjištěno jen u citlivých odrůd. *Diagnostika* – Oválné protáhlé dvoubuněčné teliospory zůstávají přichyceny 45 µm dlouhou stopkou k myceliu, jsou bezbarvé až světle žluté, jejich délka se pohybuje v rozmezí 30–50 µm a šířka 9–17 µm. Klíčí bez období odpočinku a dozrávání. Délka basidie se pohybuje v rozmezí 43,7–197,5 µm. Na basidii se vytvářejí nejčastěji dvě hyalinní jednobuněčné basidiospory o průměrné velikosti 16 x 6 µm.



Teliospora *Puccinia horiana*

tvorbou thyl, čímž se zvyšuje ucpávání cév a omezuje se přívod vody do koruny. Kromě toho houba vylučuje toxiny a vyvolává nekrózy buněk cévních svazků i přiléhajících parenchymatických pletiv. Dochází rovněž k tvorbě plynů a k přerušení vodního sloupce a kapilarity (kavitační jevy). Anamorfní i teleomorfní plodnice se tvoří na povrchu napadeného dřeva (v místech poranění nebo po opadnutí kůry) a v chodbičkách podkorního a dřevokazného hmyzu. Anamorfní plodnice jsou grafia (typu pesotum) vyrůstající jako koremiální svazky podhoubí, nesoucí na vrcholku slizovité kapičky konidii. Teleomorfní plodnice jsou černá drobná peritecia, kulovitá až baňkovitá, s dlouhým krčkem, na jehož konci jsou ústím vytlačovány slizovité kapičky hyalinních askospor.

Hospodářský význam: Velmi nebezpečná choroba karanténního charakteru omezující možnosti pěstování jilmů. Jilmy jsou napadány od nejmladšího věku do mýtného stáří. Přes všeobecné rozšíření choroby je nutná karanténa vzhledem ke zjištění několika agresivních kmenů původce *O. ulmi*, a vzhledem k novému, vysoce patogennímu druhu *Ophiostoma novo-ulmi* Brasier. První vlna kalamitní epidemie proběhla v letech 1918 až 1940; druhá vlna probíhá od 70. let mnohem intenzivněji. Ozdravení a regenerace napadených stromů je zcela výjimečná.

Způsob zavlékání: Na krátké vzdálenosti (dolet hmyzích přenašečů) chorobu rozšiřuje podkorní hmyz, zejména druhy rodu *Scolytus* – bělokaz. Na větších vzdálenosti se šíří transportem napadených dřevin a jejich částí (sazenic, roubů, řízků) nebo dřevem napadených stromů (obaly, bedny, prkna, dřevěné nelakované výrobky).

Determinace: *Symptomy* – V terénu lze chorobu zjistit podle typických tracheomykózních příznaků vyvíjejících se podle doby infekce. Je to vadnutí, ohýbání a kroucení výhonů (letorostů), chřadnutí, hynutí a odumírání jednotlivých větví v koruně, opožděné rašení pupenů, svínování listů, změna barvy (hnědnutí) i tvaru (krmění) listů, tvorba adventivních výhonů na kmenu a kosterních větvích, často velmi hustých, keříčkovitých a velmi hojných, zejména ve spodní části koruny („vlky“); někdy dochází i k výmladnosti z báze kmene a kořenových náběhů. Chronický průběh onemocnění časem přechází do akutního a napadený strom odumírá. Při silné infekci může okamžitě nastat akutní průběh onemocnění a strom odumřít během jedné vegetační sezony.

Diagnostika – Na přičném řezu napadenými větvíčkami jsou patrné tmavohnědé koncentrické skvrny ve vodivých pletivech, v běli (ucpané černohnědé cévy v letokruzích); nemusí být po celém obvodu větve. POZOR! I když je strom napaden, nemusí být nalezeny koncentrické skvrny ve všech větvích koruny. Při rozvinutější infekci tvorba anamorfních (grafia) i teleomorfních (peritecia) plodnic v chodbičkách po žíru bělokazu nebo na kmenech po opadu kůry (rovněž i na řezných plochách čerstvých pařezů).

DACTULOSPHEIRA VITIFOLII (Fitsch)

Synonyma: *Phylloxera vastatrix* Planchon; *Phylloxera vitifoliae* (Fitsch)

Mšička révokaz

Národné názvy: anglicky – grapevine phylloxera, vine louse; francouzsky – phylloxéra de la vigne; německy – Reblaus; rusky – filloksera; španělsky – filoxera



1. Hřbetní strana napadeného listu



2. Spodní strana listu s hálkami

Hostitelské rostliny: Různé druhy révy vinné (*Viteus* spp., např. *Viteus vinifera*, *V. riparia*, *V. rupestris*, *V. berlanderi*)

Geografické rozšíření: Mšička révokaz pochází ze Severní Ameriky, byla zavlečena i do ostatních světadílů: Evropa – všechny státy, v nichž se pěstuje réva vinná: Afrika – Alžírsko, Maroko, Jihoafrická republika, Tunisko, Zimbabwe; Asie – Arménie, Azerbájdžán, Gruzie, Indie, Izrael, Japonsko, Jordánsko, Korea, Libanon, Sýrie, Tádžikistán, Turecko, Uzbekistán; Severní Amerika – USA, Panama; Jižní Amerika – Argentina, Bolívie, Brazílie, Kolumbie, Peru, Uruguay, Venezuela; Oceánie – Austrálie, Nový Zéland.

Bionomie: Vývoj mšičky probíhá rozdílně na evropské a amerických révách. Úplný vývoj probíhá na některých amerických révách. Vajíčka přezimují na kůře a pupenech dvouletého dřeva. Nymfy se líhnou v době rašení, z nich se vyvíjí listová forma, která se stěhuje na listy a vytváří na nich vyduté háčky. V průběhu vegetační sezony se vyvíjí několik listových generací. Samice kladou vajíčka v počtu až 600 na háčku. Na listech se vyvíjí čtyři až šest generací.

Počínaje třetí generací část nymf listové formy přelézá na kořeny, na nichž se následně vyvíjí několik partenogenetických generací. Nymfy těchto generací se v půdě rozlézají a napadají nové kořeny. Sají na kořenech a na zdufeninách, jejichž tvorbu sáním vyvolávají. V létě a na podzim se líhnou nymfy, které opouštějí kořeny a osidlují

DIAPORTE HELIANTHI MUNT. CVET. et al.
anamorfa *PHOMOPSIS HELIANTHI* MUNT. CVET. et al.

Synonymá: *Phomopsis helianthi* Munt. Cvet. et al.



1. Poľahnutie napadnutých rastlín



2. Lézie na stonkách

Hostitelské rastliny: Slnecnica ročná (*Helianthus annuus* L.)

Spôsob zavlečenia: Hlavný spôsob šírenia patogéna je vzdušnou cestou, primárne askospórami a sekundárne piknospórami. Nebol popísaný prenos osivom, patogén počas skladovania osiva stráca životaschopnosť.

Hospodársky význam: Škodlivosť choroby pôsobí poľahnutie rastlín a znižuje veľkosť úborov s nevyvinutými semenami. Škodlivosť patogéna kolíše v závislosti od genotypu hostiteľa, od infekčného tlaku a od podmienok pestovania. V priaznivých podmienkach pre patogéna napadnutie porastov kolíše v hraniciach 50–60 %, ale pri silnom infekčnom tlaku za 4–5 týždňov môžu byť zničené nielen individuálne rastliny, ale aj celé porasty. Pri pestovaní tolerantných hybridoch straty sú menšie aj pri strednom infekčnom tlaku. U niektorých genotypoch škodlivosť sa prejaví iba na listoch.

Geografické rozšírenie: Choroba je doposiaľ známa z Juhoslávie, Maďarska, Rumunska, Francúzska, Ukrajiny, ČR, SR a USA.

Epidemiológia: Slnecnica je napadaná obvyčajne po odkvitnutí a choroba má systémový priebeh. Primárna infekcia sa uskutočňuje askospórami, ktoré dozrievajú v peritéciiach po prezimovaní hlavne na pozberových zvyškoch stoniek slnečnice. Patogén si uchováva životaschopnosť cez zimné obdobie iba na rastlinných zvyškoch, ktoré zostali na povrchu pôdy. Už v hĺbke viac ako 50 mm sa netvorí žiadne rozmnožovacie orgány. Po infekcii listov mycélium patogéna pretrváva cez vodivé pletivá listov do stonky. Prvé

symptómy po infekcii sa objavia za 5–7 dní. Patogén produkuje enzým rozkladajúci pektíny, ktoré môžu floém a parenchymatické pletivá celkom rozkladať. Pletivá xylému sú menej poškodené. V kôrovitých pletivách stonky sa vytvárajú piknidy s piknospórami, ktorými sa šíri patogén sekundárne počas vegetácie. Optimálne teploty pre šírenie sú 25–27 °C, dažďové zrážky a vysoká vlhkosť.

Spôsob zavlečenia: Hlavný spôsob šírenia patogéna je vzdušnou cestou, primárne askospórmi a sekundárne piknospórmi. Nebol popísaný prenos osivom, patogén počas skladovania osiva stráca životaschopnosť.

Determinácia: Detekcia choroby v poľných podmienkach je sťažená tým, že na rastlinách sa môžu súčasne vyskytovať patogény vyvolávajúce veľmi podobné symptómy, ako sú: *Sclerotinia sclerotiorum*, *Macrophomina phaseolina*, *Phoma oleracea* var. *helianthi tuberosi* a *Alternaria* sp. Symptómy na listoch sa prejavujú vo forme hnedých škvrn, ktoré často splyvajú smerom k hlavným nervatúram. Časti listov, ktoré susedia s hlavnou nervatúrou odumierajú. Na stonkách lézie sa objavujú vždy v mieste nasadenia stopky. Na začiatku sú pretiahnutého tvaru, neskoršie objímajú celú stonku. Sfarenie kolíše od oranžovo hnedej až po červenú. Okolo stopky môže byť belavý nádych. Stonky na miestach lézií sú často zmäknuté a usychajú. Napadnuté rastliny polhajú.

Spôsob ochrany: Základom ochrany je sfachtlenie na rezistenciu, aj keď väčšina v súčasnosti pestovaných odrôd a hybridov je náchylná. Sú známe tolerantné a odolné hybridy a odrody. Z agrotechnických opatrení je dôležité dôkladné rozdrvenie a zaorávanie napadnutých rastlinných zvyškov po zbere. Ďalším opatrením je dodržanie osevného postupu a zakladanie nových porastov na vzdialenejších pozemkoch od lokality výskytu mimo smeru prevládajúcich vetrov a likvidácia rastlín z výdrolu v následnej plodine. Rozvoj choroby brzdí riedke porasty (asi 50 tis. rastlín/ha), aj pestovanie odolnejších alebo tolerantnejších hybridov. V chemickej ochrane väčšinou postačí jeden zásah. Na preventívne ošetrenie sú vhodné prípravky na báze benomylu a flusilazolu a kuratívny účinok majú prípravky na báze fenpropimorfu. Dôležitou prevenciou pred napadnutím je aj ochrana proti škodcom, ktoré cez drobné poranenia vytvoria vstupnú bránu pre infekciu.

nadzemní časti révy, dorůstajú v křídlaté partenogenetické jedince (sexupara), kteří nepřijímají potravu a do 24 hodin kladou různě veliká vajíčka. Z velkých vajček se líhnou samice, z malých se líhnou samci. Tato pohlavní generace (sexuales) se páří a samice vyklade jedno přezimující vajíčko.

Na evropské révě se mšička od jara vyvíjí na kořenech, listová forma chybí. Během léta se rozmnožuje partenogeneticky. Sexupary se sice líhnou, ale nemohou se na listech vyvíjet a proto není roční cyklus úplný. Mšička révokaz přežívá ve všech klimatických podmínkách, které toleruje réva vinná.

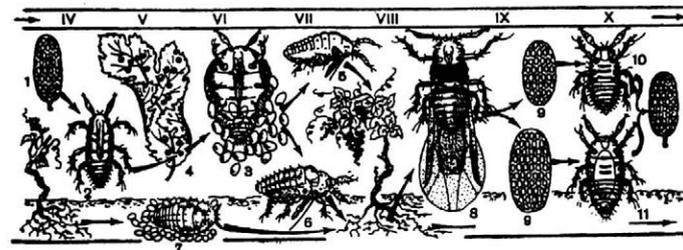
Příznaky poškození mšičkami na listech se projevují vyduťtými hálkami, které se netvoří na dorostlých listech. Napadené listy se během vegetační sezony třepí. Kořenová forma saje na kořenech a žlutých zauzlinách. Sáním způsobuje odumírání kořenů. Listy poškozených keřů žloutnou a křní. Napadené keře během 3 až 10 roků odumírají.

Hospodářský význam: Škodlivost mšičky révokaze na révě se odstranila štěpováním evropských odrůd na americké podnože, na nichž se vyvíjí pouze listová forma mšičky, která neškodí. Od roku 1980 byly ve Francii, na Novém Zélandu, v Německu, Švýcarsku a USA (Kalifornie) na štěpovaných hybridcích pravokofené révě zjištěny listové hálky. Jejich výskyt se přisuzuje výskytu nového biotypu (B), snížené rezistenci některých podnoží (AXR1) nebo klimatickým změnám.

Způsob zavlečení: Kořenová forma se šíří sazenicemi révy, listová forma se šíří nadzemními částmi révy, včetně řtapin hroznů.

Determinace: Vajíčko je elipsoidní, žluté až žlutozelené, lesklé s šestiúhelníkovou strukturou na povrchu o velikosti 0,25–0,3 x 0,15–0,2 μm.

Zakladatelka je žlutozelená bez černých teček, vakovitého tvaru o velikosti 1–1,3 mm. Kořenové přezimující larvy (hiemales) jsou hnědé, ploché až vyduťté často ve sluchích.



Životní cyklus mšičky révokaze: 1–5 – neúplný cyklus listové formy; 6–11 – úplný cyklus kořenové formy; 1 – přezimující vajíčko; 2 – nymfa zakladatelky; 3 – zakladatelka tvořící hálky na listech; 4 – hálky na listech; 5 – bezkřídlatá mšička tvořící hálky; 6, 7 – kořenové bezkřídle formy mšičky; 8 – křídlatá sexupara; 9 – typy vajíček, z nichž se líhnou samci a samice; 10 – samec; 11 – samice. Římskými číslicemi jsou označeny měsíce (podle M. S. Giljarova, 1984)

The Effect of Nutrient Medium on Growth of *Escherichia coli* Bacteria with pBI 121 Plasmid DNA*

Ivan MRÁZ, Karel PETRZIK, Miroslav ŠÍP

*Institute of Plant Molecular Biology, Academy of Sciences of the Czech Republic,
České Budějovice, Czech Republic*

Abstract

MRÁZ I., PETRZIK K., ŠÍP M. (1998): The effect of nutrient medium on growth of *Escherichia coli* bacteria with pBI 121 plasmid DNA. *Pl. Protect. Sci.*, 34: 63–66.

The effect of nutrient medium on growth of *Escherichia coli* containing the 13 kbp pBI 121 plasmid and on yield of isolated plasmid DNA were examined. Six nutrient media (LB, SOB, SOC, King B, MPA_(g), and YDC) were tested in five repetitions. The growth of *E. coli* bacteria was measured after 30 min (beginning of the exponential phase), 290 min (beginning of the stationary phase) and after 21 h (16 h after the beginning of the stationary phase) of bacteria cultivation. The highest bacterial biomass after 290 min of cultivation was observed in the media LB (OD₅₅₀ 0.745), King B (OD₅₅₀ 0.647) and SOB (OD₅₅₀ 0.553). The plasmid pBI 121 DNA was isolated five times 22 h after inoculation. On average, the highest yield of plasmid DNA was obtained from *E. coli* cultivated in MPA_(g) medium (305 ng/ml). The yields from King B (150 ng/ml), SOC (113 ng/ml) and SOB (84 ng/ml) were also higher than the yield from LB medium (47 ng/ml). We conclude that the best media to culture *E. coli* with large plasmids such as pBI 121 are those enriched with meat extract and glucose (MPA_(g)) or nutrient media enriched with Mg²⁺ and PO₄³⁻ ions (King B).

absorbance; growth phases; optical density; plasmid yield; large plasmid

The plasmid pBI 121 and its derivatives (pBI 101, pBI 221 plasmids) were prepared by JEFFERSON et al. (1987). They are widely used as the 35S CaMV promoter source plasmids and for construction of expression vectors in plants. These plasmids contain the neomycin phosphotransferase (NPTII) gene driven with nopal synthase (NOS) promoter and terminated by NOS terminator and β-glucuronidase (GUS) gene directed by cca 800 bp CaMV fragment of CaMV 35S promoter and NOS terminator. The size of the whole construction is about 13 kb and it is one of the largest vectors propagated in *E. coli*.

The aim of this work was to observe the effect of nutrient media on growth of *Escherichia coli* bacteria with pBI 121 plasmid DNA. Growth and multiplication of a bacterial population over time are measured either by accumulation of biomass or by concentration of bacterial cells. Both quantities are in substance independent. Generally, it is not possible to derive the first quantity from the second quantity and alternatively (KAPRÁLEK 1986).

E. coli XL-1 Blue strain competent cells [F' *proAB lacI^q ΔM15 Tn10* (Tet^r)]^c (Stratagene GmbH, Heidel-

berg, Germany) selected on Km agar plates were transformed by the pBI 121 plasmid. The six following nutrient media were used: Luria-Bertani Medium (LB Medium), SOB, SOC media (SAMBROOK et al. 1989), meat-peptone-nutrient medium with glucose (MPA_(g)) (Imuna, Šarišské Michalany, Slovakia), King B (KING et al. 1954) and YDC media (yeast extract-dextrose-CaCO₃) (DAVIS 1979). The test was repeated five times.

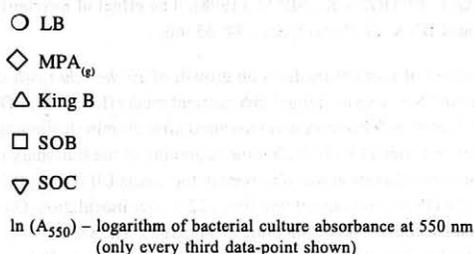
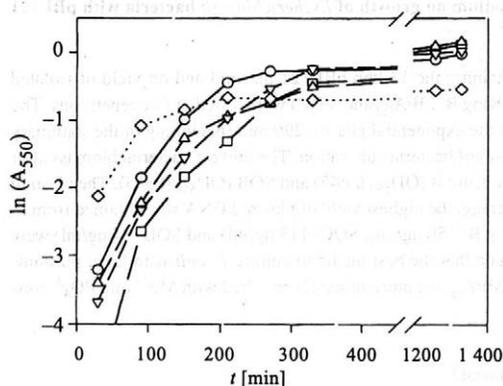
Every medium (15 ml) in an Erlenmeyer flask was inoculated with one ON growth colony from a Petri dish with 100 mg/ml kanamycine (Boehringer Mannheim, Germany) and incubated in a shaking water bath at 37 °C. The optical density of the growing cultures was measured at 550 nm by a Sumal PE 2 Spectrophotometer first 30 minutes after inoculation, then in 20 min intervals till 370 min, and then four times in 20 min intervals 21 h after inoculation. Plasmids were isolated by the alkaline lysis and isopropanol precipitation method according to SAMBROOK et al. (1989) from 1.5 ml of culture in nutrient medium and their concentration was measured on Gene Quant II RNA/DNA Calculator according to the absorbance at 260 nm.

*This research work was supported by grant No. 522/96/0854 of the Grant Agency of the Czech Republic.

The growth rate of bacteria was for all five media (with the exception of YDC) exponential at the beginning, and then it showed a stationary phase. The lag period was shorter than 30 min – the time of the first measurement. The fastest growth after 30 min cultivation (beginning of the log phase) was observed in MPA_(g), followed by media LB and SOC. The log phase in media King B and SOB were longer (Fig. 1). *E. coli* did not grow in medium YDC and results for this medium were not calculated.

Two important parameters can be derived from the growth curves: the rate of growth k in the exponential phase, and the bacterial biomass in the stationary phase A_s .

Assuming that during the exponential phase the growth is governed by the equation $A(t) = A_0 \cdot e^{kt}$, where $A(t)$ is



the absorbance of the bacterial culture (which is directly proportional to the bacterial biomass) at time t after the inoculation, A_0 is the starting absorbance at $t = 0$ (inoculation time) and k is the growth rate. The parameter k can be determined from a logarithmic plot of experimental data by regression. Fig. 2 represents the experimental data with the regression line, the slope of which gives the growth rate k . The growth rates are compared in Table 1.

Table 1. Growth rates in the exponential phase and absorbances in the stationary phase A_s

Nutrient medium	k [min ⁻¹]	Δk [min ⁻¹]	A_s	ΔA_s
LB	$1.94 \cdot 10^{-2}$	$0.12 \cdot 10^{-2}$	0.92	0.03
SOB	$3.08 \cdot 10^{-2}$	$0.60 \cdot 10^{-2}$	1.07	0.04
SOC	$2.42 \cdot 10^{-2}$	$0.29 \cdot 10^{-2}$	1.13	0.03
King B	$2.09 \cdot 10^{-2}$	$0.14 \cdot 10^{-2}$	1.00	0.02
MPA _(g)	$4.08 \cdot 10^{-2}$	$0.75 \cdot 10^{-2}$	0.57	0.01
YDC	log phase not found	–	0.00	0.00

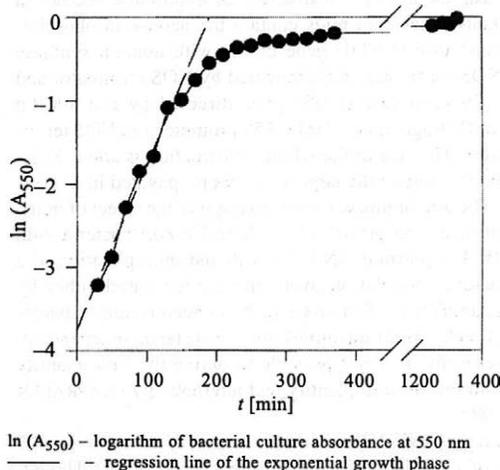
k – growth rate; Δk – standard deviation of k ; A_s – absorbance in the stationary phase; ΔA_s – standard deviation of A_s

Our *E. coli* culture entered the stationary phase 290 min after inoculation (Fig. 2). At this time the fastest growth of *E. coli* bacteria was measured in media LB (OD_{550} 0.745), King B (OD_{550} 0.647) and SOB (OD_{550} 0.553). Media SOC and MPA_(g) had optical densities of 0.506 and 0.484, respectively.

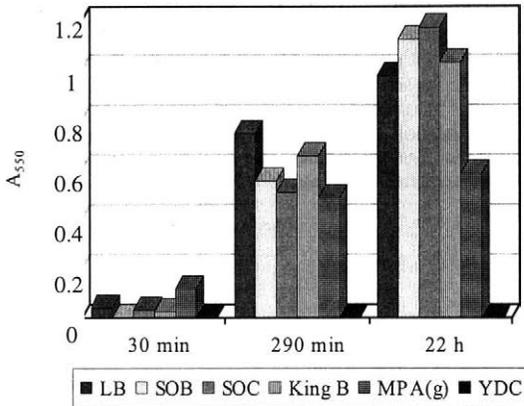
The second characteristic of the experimental curves – the bacterial biomass in the stationary phase – was determined from the arithmetic mean value of the four measurements taken after 21 h. The increase of the optical density measured 21 h after inoculation was more than 100% of that at 290 min after inoculation in media SOC and SOB, but only about 20% in MPA_(g) (Fig. 3). After cultivation for 21 h, the highest amount of bacterial bio-

1. Comparison of bacterial growth on six different nutrient media

mass was observed in media SOC (OD_{550} 1.13), SOB (OD_{550} 1.07) and King B (OD_{550} 1.00) (Table 1).



2. Logarithmic plot of bacterial growth on the LB nutrient medium



3. Comparison of bacterial growth on six different nutrient media on the beginning of log (30 min), stationary (290 min) and 16 h after beginning of stationary (22 h) phase measured by absorbance at 550 nm (A₅₅₀)

mass was observed in media SOC (OD₅₅₀ 1.13), SOB (OD₅₅₀ 1.07) and King B (OD₅₅₀ 1.00) (Table 1).

It should be noted that the fastest growth was observed in medium MPA_(g) ($k = 4,08 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$), but the concentration of the bacteria in the stationary phase in MPA_(g) was the lowest among all the tested media (Fig. 3). This result clearly shows mutual independence of the parameters k and A_s .

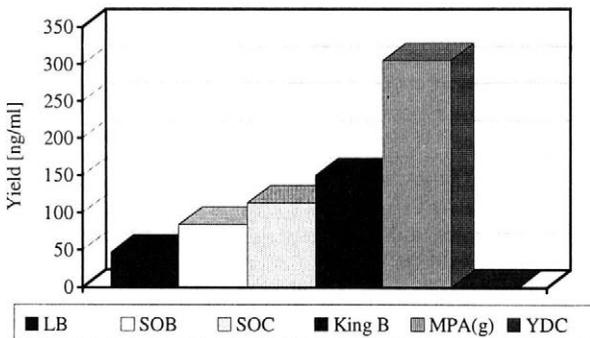
The plasmid pBI 121 DNA was isolated five times by the alkaline lysis method (SAMBROOK et al. 1989) from the bacteria 22 h after inoculation. On average, the highest yield of plasmid DNA was obtained from *E. coli* cultivated in medium MPA_(g) (305 ± 62 ng/ml). The yield from the media King B (150 ± 19 ng/ml), SOC (113 ± 15 ng/ml) and SOB (84 ± 14 ng/ml) was also higher than that from the widely used LB medium (47 ± 13 ng/ml) (Fig. 4).

The recommended final concentration of a bacterial culture prepared for plasmid production is given by the value of its optical density equal to 0.6 (SAMBROOK et al. 1989). Accordingly, nutrient media LB, King B and SOB were most suitable for cultivation of these bacteria. Their preparation is not difficult, and the bacteria in the

media attain an optical density of about 0.600 in five hours after inoculation (LB 0.745, King B 0.647, SOB 0.553).

Our method of assessing the yield of plasmid DNA was not precise enough to allow a detailed quantitative study of the plasmid yield as a function of both OD of bacterial culture and nutrient medium composition. Nevertheless, we conclude that the best media for cultivation of *E. coli* with large plasmids such as pBI 121 are media enriched with meat extract and glucose (MPA_(g)), or nutrient media enriched with Mg²⁺ and PO₄³⁻ ions (King B).

Many phytopathogenic bacteria contain plasmid DNA in a size similar to that of pBI 121 plasmid. In fact, the plasmid DNA in these bacteria is often much larger than pBI 121 plasmid DNA and its derivatives (*Agrobacterium tumefaciens* Ti plasmid is about 200 kbp, *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* contains two plasmids – CM 1 of 27.5 kbp and CM 2 of 72.0 kbp.) Plasmids of these bacteria carry determinants for phytopathogenicity (MELETZUS et al. 1993). This work describes the pBI 121 plasmid as a model for similar studies on phytopathogenic bacteria.



4. Yield (ng/ml) of pBI 121 plasmid DNA from six nutrient media used in the test

References

- DAVIS R. E. (1979): Spiroplasmas: Newly Recognized Arthropod-Borne Pathogens. In: MARAMOROSCH K., HARRIS K. F. (Eds.): Leafhopper Vectors and Plant Disease Agents. New York, Academic Press: 141–448.
- JEFFERSON R. A., KAVANAGH T. A., BEVAN M. W. (1987): GUS fusions: beta-glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants. *EMBO J.*, 6: 901–3907.
- KAPRÁLEK F. (1986): Fyziologie bakterii. Praha, SPN: 608 s.
- KING E. O., WARD M. K., RANEY D. E. (1954): Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Labor. Clin. Med.*, 44: 301–307.
- MELETZUS D., BERMPOHL A., DREIER J., EICHENLAUB R. (1993): Evidence for plasmid-encoded virulence factors in the phytopathogenic bacterium *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* NCPPB 382. *J. Bacteriol.*, 175: 2131–2136.
- SAMBROOK J., FRITSCH E. F., MANIATIS T. (1989): Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.

Received for publication March 13, 1998

Accepted for publication May 14, 1998

Souhrn

MRÁZ I., PETRZIK K., ŠŤP M. (1998): Vliv živného média na růst bakterií *Escherichia coli* s plazmidem pBI 121. *Pl. Protect. Sci.*, 34: 63–66.

Testovali jsme vliv živné půdy na růst bakterií *E. coli* a rovněž na výtěžnost velké (13 kbp) plazmidové DNA. Celkem jsme testovali v pěti opakovaných šest živných půd (LB, SOB, SOC, King B, MPA_(g) a YDC). Růst bakterií *E. coli* byl měřen po 30 min (počátek log fáze), 290 min (deklinační fáze) a po 21 h (stacionární fáze) kultivace bakterií. Nejvyšší nárůst po 290 min kultivace byl zaznamenán v půdě LB (OD₅₅₀ 0.745), King B (OD₅₅₀ 0.647) a SOB (OD₅₅₀ 0.553). Plazmidová DNA pBI 121 byla izolována celkem pětkrát, vždy 22 hodin po inokulaci bakterií. V průměru jsme izolovali nejvyšší množství plazmidové DNA z bakterií kultivovaných v MPA_(g) médiu (305 ng/ml). Rovněž množství plazmidové DNA získané z bakterií kultivovaných v půdách King B (150 ng/ml), SOC (113 ng/ml) a SOB (84 ng/ml) bylo vyšší než výtěžek plazmidové DNA z LB média (47 ng/ml). Předpokládáme, že nejvhodnější živná média pro kultivaci bakterií *E. coli* s velkými plazmidy jako je pBI 121 jsou taková média, jež jsou obohacena masovým výtažkem a glukosou (MPA_(g)), nebo živná média obohacená ionty Mg²⁺ a PO₄³⁻ (King B).

absorbance; růstové fáze; optická hustota; výtěžek plazmidové DNA; velký plazmid

Contact address:

Ing. Ivan Mráz, CSc., Ústav molekulární biologie rostlin, Akademie věd České republiky, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Česká republika, tel.: + 420 38 77 75 534, fax: + 420 38 43 750, e-mail: mraz@umbr.cas.cz

Klíněnka jírovcová (*Cameraria ohridella*) napadá také javor

František GREGOR, Zdeněk LAŠTŮVKA, Radomír MRKVA¹

Mendel University of Agriculture and Forestry – Department of Zoology and Apiculture;

¹Department of Forest Protection, Brno, Czech Republic

GREGOR F., LAŠTŮVKA Z., MRKVA R. (1998): *Cameraria ohridella* also on *Acer* spp. Pl. Protect. Sci., 34: 67–68.

Besides the usual host plant *Aesculus hippocastanum* (*Aesculus* spp.) the moth *Cameraria ohridella* has been also reared from mines on *Acer platanoides* and *A. pseudoplatanus* in several localities of southern Moravia. The moths from these host plants are about one third smaller than those from *Aesculus* and high mortality of larvae has been observed.

Gracillariidae; *Cameraria ohridella*; *Acer*; Moravia

Cameraria ohridella Deschka & Dimić, 1986 poprvé pozorovaná v roce 1984 v okolí jezera Ochrid jako masový škůdce jírovce maďalu (*Aesculus hippocastanum* L.) se krátce po svém popisu objevila v Horním Rakousku, odkud se lavinovitě šířila a šíří všemi směry. Na našem území byla poprvé zaregistrována na podzim roku 1993 (LIŠKA in LAŠTŮVKA et al. 1994). V následujících třech letech osídlila podstatnou část Moravy a s malým zpožděním i mnoho lokalit v Čechách. V teplejších polohách způsobila v letech 1995–1997 svým intenzivním napadením předčasný opad, resp. zaschnutí listů jírovců v alejích a parcích. Tato okolnost podnítila zájem řady entomologických pracovišť o studium tohoto druhu a vyvolala diskuse o možných následcích napadení a budoucnosti jírovců. Řešení těchto otázek však není cílem tohoto krátkého sdělení. Autoři chtějí pouze upozornit na javor, jako dosud neznámou hostitelskou rostlinu tohoto druhu a z toho vyplývající možné souvislosti.

Dosud známou živnou rostlinou *Cameraria ohridella* je jírovec a její bionomie je popsána již v původním popisu (DESCHKA, DIMIĆ 1986). Druh preferuje výrazně jírovec maďal, další u nás pěstované druhy jírovců jsou napadány s podstatně nižší intenzitou. Značným překvapením bylo proto nalezení min této klíněnky i na javorech. Ojedinelé napadení javoru kleny bylo pozorováno již v Rakousku (KREHAN 1995; LIŠKA – ústní sdělení), vždy však s absolutní mortalitou housenek. Na našem území byly napadené javory pozorovány koncem léta a na podzim 1997 na následujících lokalitách: *Acer pseudoplatanus* L.: Brno-Černá Pole, VIII.–X. 1997, lgt. R. Mrkva (obr. 1); *Acer platanoides* L.: Brno-Pisárky, IX. 1997, lgt. M. Šindelková; Kroměříž, IX. 1997, lgt. H. Chutná.

Napadení javorů bylo poměrně intenzivní, tedy v žádném případě nešlo o náhodně nakladená jednotlivá vajíčka zalétlými samicemi. Imága vychovaná z javorů jsou asi o třetinu menší než motýli z jírovce a kromě toho dosahuje mortalita housenek kolem 60–70 %.

Napadení javorů druhem *Cameraria ohridella* je velmi pozoruhodné z teoretického hlediska a mohlo by se stát i závažným praktickým problémem. V této chvíli však nelze rozhodnout, zda jde o případ náhodné xenofágie, o nouzové řešení vyvolané nedostatkem listů obvyklé hostitelské rostliny po jejich likvidaci, nebo geneticky podmíněnou možnost přechodu na tuto náhradní potravu. V této souvislosti stojí za zmínku, že k nejbližším druhům *Cameraria ohridella* patří patrně někteří východoasijské zástupce rodu *Cameraria* (nikoli americké druhy, zejména *Cameraria aesculisella* Chambers, 1871, srv. BRAUN 1914; KUMATA 1963, DESCHKA, DIMIĆ 1986 a DESCHKA 1995) a z těchto druhů právě *Cameraria niponica* Kumata, 1963 napadající japonské druhy javorů. Tato skutečnost znovu otvírá otázku původu tohoto jediného „evropského“ druhu rodu *Cameraria*. Masové šíření *Cameraria ohridella* krátce po prvním zjištění a intenzivní napadení jírovců s absencí přirozených antagonistů ukazuje spíše na cizí původ tohoto druhu.

Literatura

- BRAUN A. F. (1914): Evolution of the color pattern in the microlepidopterous genus *Lithocolletis*. Philad. J. Acad. Nat. Sci., Ser. 2, 16: 103–168.
DESCHKA G. (1995): Schmetterlinge als Einwanderer. Stapfia 37, Kat. OÖ Landesmus. N.F., 84: 77–128.

DESCHKA G., DIMIĆ N. (1986): *Cameraria ohridella* sp. n. (Lep., Lithocolletidae) aus Mazedonien, Jugoslawien. Acta Entomol. Jugosl., 22: 11–23.

KREHAN H. (1995): Rosskastanien-Miniermotte, *Cameraria ohridella* – Befallssituation in Österreich. Forstschutz Aktuell, Wien, 16: 8–11.

KUMATA T. (1963): Taxonomic studies on the Lithocolletinae of Japan (Lepidoptera: Gracillariidae), II. Ins. Matsum., 26: 1–48.

LAŠTŮVKA Z. et al. (1994): Faunistic records from the Czech Republic – 18. Klapalekiana, 30: 197–206.

Došlo 12. 1. 1998

Přijato k publikaci 11. 5. 1998

Kontaktní adresa:

Doc. RNDr. Zdeněk Laštůvka, CSc., Ústav zoologie a včelařství, AF MZLU Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, tel.: + 420 5 45 13 32 45, fax: + 420 5 45 21 20 44, e-mail: krejcova@mendelu.cz

REVIEW

REVIEW

Změny v taxonomii fytopatogenních prokaryot v letech 1987–1997

Václav KŮDELA

*Research Institute of Crop Production – Division of Plant Medicine, Prague-Ruzyně, Czech Republic***Abstract**KŮDELA V. (1998): **Changes in the taxonomy of phytopathogenic prokaryotes in the period 1987–1997.** *Pl. Protec. Sci.*, 34: 69–78.

Classification of microorganisms has been inevitably in a state of flux. Progress in the refinement of bacterial classification is quite often coupled with drastic changes in nomenclature. If reclassification and renaming is radical and frequent it may cause some difficulties in communication and understanding e.g. in plant quarantine. Therefore, an appeal for stability in nomenclature is relevant, but it is mostly not granted. In the first part of this review, recent changes in taxonomy and nomenclature of plant pathogenic prokaryotes are outlined. New genera containing plant pathogens are presented. Species names of bacterial pathogens validated by publication in the *International Journal of Systematic Bacteriology* are listed. In the second part of this paper, an updated list of valid names and pathovars of plant pathogenic bacteria is given, arranged according to host plants. Only pathogens of economic importance and quarantine organisms are included in this list.

phytopathogenic bacteria; phytoplasmas; taxonomy; nomenclature

Fytopatologové zabývající se praktickou ochranou rostlin, výzkumem nebo výukou se ve své činnosti neobejdou bez taxonomie fytopatogenních organismů a jejich hostitelských rostlin. Součástí taxonomie je klasifikace, nomenklatura a identifikace organismů. Z těchto tří oblastí taxonomie se fytopatologové přednostně zajímají o identifikaci. Naproti tomu jen pasivně a nezdědky i neochotně přijímají změny v klasifikaci a navazující změny v názvech organismů.

Změny v taxonomii bakterií jsou průběžným jevem. V posledním desetiletí byly tyto změny urychleny zejména tím, že taxonomové nejsou jako v minulosti odkázáni pouze na fenotypové charakteristiky. Disponují dnes četnými výsledky získanými moderními metodami molekulární biologie a chemotaxonomie, které jim umožňují odhalit dříve nezjistitelné genetické a fylogenetické charakteristiky mikroorganismů. Souborné zpracování všech platných změn v klasifikaci a nomenklatuře fytopatogenních prokaryot uskutečněných v období 1987–1997 nebylo dosud publikováno. Seznam změn v názvech fytopatogenních bakterií v letech 1980–1988 zveřejnili YOUNG et al. (1991). Změny do roku 1992 analyzovali

YOUNG et al. (1992). Seznam platných jmen bakterií publikovaných do září 1995 vydala Česká sbírka mikroorganismů MU Brno (CCM 1996). Historickým vývojem názvosloví fytopatogenních bakterií v období 1864–1995 se zabývali YOUNG et al. (1996).

Cílem tohoto příspěvku je urychlit a usnadnit zavádění všech kodifikovaných změn v taxonomii fytopatogenních bakterií do běžné rostlinolékařské praxe. Navazujeme na přehledy zveřejněné v časopise *Ochrana rostlin* (KŮDELA 1982, 1987)

Obecné principy klasifikace a nomenklatury

Obecné principy bakteriální taxonomie spolu s detailními údaji o charakteristikách, které se používají pro klasifikaci, jsou uvedeny v posledním vydání *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (KREIG, HOLT 1984). Nomenklatura se řídí mezinárodním kódem – *International Code of Nomenclature of Bacteria* (LAPAGE et al. 1992). V nomenklatuře mají nyní místo jen ta jména bakterií, která byla začleněna do schváleného seznamu – *Approved Lists of Bacterial Names* (SKERMAN et al. 1980), a ta, která byla od 1. ledna 1980 právoplatně publikována

v časopise *International Journal of Systematic Bacteriology* (IJSB). Jsou-li práce o nově zjištěných bakteriích nebo nové klasifikaci a nových názvech publikovány jinde než v IJSB, stávají se nové jméno či kombinace jmen platné až po oficiálním potvrzení, což se děje dodatečným zveřejněním v IJSB ve formě tzv. „Validation Lists“.

Pro názvoslovní patovarů fytopatogenních bakterií platí doporučení vydané komisí pro taxonomii fytopatogenních bakterií při *International Society for Plant Pathology* z roku 1980 (DYE et al. 1980) a 1991 (YOUNG et al. 1991). Nová jména patovarů nemusí být publikována, ani dodatečně stvrzena v IJSB. Jména se považují za platná, pokud byl nový taxon řádně zveřejněn v časopise dostupném pro vědeckou komunitu a typový patotyp uložen v jedné sbírce nebo více stálých sbírkách mikroorganismů.

Pojetí termínu bakterie a taxonomické postavení fytopatogenních prokaryot

Názory na obsah pojmu bakterie se mění. Poté, co se prokázalo, že sinice (nazývané také modrozelené řasy, neboť využívají chlorofyl k absorpci světla při fotosyntéze) jsou skutečnými bakteriemi (RIPPKA et al. 1979), staly se termíny bakterie a prokaryota synonymními. Naproti tomu, jak uvádějí WOESE et al. (1990), by termín bakterie měl být používán v užším významu než termín prokaryota. Prokaryota lze totiž rozdělit na dvě odlišné strukturální skupiny, mezi nimiž je větší rozdílnost než mezi rostlinami, houbami a živočichy. Dokazují to údaje o pořadí ribonukleotidů rRNA. Z toho WOESE et al. (1990) vyvodili závěr, že by měl existovat vyšší taxon než říše (regnum), který by se mohl nazývat impériem (domain, empire). Všechny živé organismy by pak patřily do některého z těchto tří impérií: *Eucarya* (zahrnující všechna eukaryota), *Bacteria* (zahrnující eubakterie a rovněž mitochondrie a chloroplasty) a *Archaea* (zahrnující všechny skupiny archeobakteri). Termín prokaryota by však neměl vymizet, neboť charakterizuje buněčnou strukturu společnou pro organismy začleněné do impéria *Bacteria* a *Archaea*.

Pokud by návrh na vytvoření tří impérií byl akceptován, pak součástí impéria *Eubacteria* by byly dvě říše, a to *Firmicutes* a *Proteobacteria*, které podle dosud platné hierarchie taxonomického třídění mají status oddělení (TRÜPER 1994).

Zmíněné diskuse o náplni termínu bakterie nikterak nezpochybňují dosavadní praxi, v níž se bakterie v širším pojetí používají pro označení sinic, pravých bakterií, aktinomycet, mykoplazem a spiroplazem.

Podle dosud platného taxonomického členění obsahuje říše *Procarvotae* čtyři oddělení. Fytopatogenní prokaryota patří do některé z těchto tří tříd: *Gracilicutes* (gramnegativní bakterie), *Firmicutes* (grampozitivní bakterie a aktinomycety) nebo *Tenericutes* (prokaryota bez stěny buněčné, k nimž patří fytoplazmy a spiroplazmy v třídě *Mollicutes*).

Fytoplazmy a spiroplazmy – nahá prokaryota

S rostlinami jsou spjaty dvě skupiny prokaryotických organismů, které nemají stěnu buněčnou. Jsou to jednak mykoplazmám podobné organismy (mycoplasma-like organisms – MLO), jednak spiroplazmy (*Spiroplasma*). Pro obě skupiny, tvořící třídu *Mollicutes*, se začíná používat (v souladu s vědeckým názvem *Tenericutes*) označení nahá (měkká) prokaryota (angl. = naked or soft prokaryotes).

Taxonomický status MLO je stále provizorní. MLO se sice podobají taxonomicky přesně definovaným organismům rodu *Mycoplasma*, známým jako původci onemocnění savců a ptáků, ale na rozdíl od nich se často vyskytují ve vláknitých a větvených formách. Na rozdíl od pravých mykoplazem se MLO dosud nepodařilo kultivovat na umělých živných půdách, což je velkou překážkou pro zjištění jejich charakteristik. Z výsledků sekvenční analýzy ribozomové RNA vyplývá, že MLO tvoří relativně homogenní skupinu, která se vyvinula ze společného předka. Všechny MLO lze rozčlenit do pěti klastřů (SEEMÜLLER et al. 1994). Přibližně od roku 1995 se pro MLO začal používat termín **fytoplazmy**. Postupně se rozvíjí nová disciplína zabývající se studiem fytoplazem, kterou lze analogicky s názvem mykoplazmologie (angl. = mycoplasmaology) (SEEMÜLLER et al. 1994) nazvat fytoplazmologie.

Náplň rostlinolékařské bakteriologie

Poznání genotypových vlastností organismů a jejich fylogenetických vztahů přispívá ke krystalizaci naplně fytopatologických disciplin. Fytoplazmy společně s dalšími prokaryoty, tj. spiroplazmami, pravými bakteriemi a aktinomycetami, jsou předmětem **rostlinolékařské bakteriologie**. V angličtině se ve stejném významu uplatňuje název bacterial plant pathology (bakteriální fytopatologie) (GOTO 1992; SIEGE 1993). Pokud by se měl v češtině používat termín fytopatologická bakteriologie, měl by být akceptován i analogický termín fytopatologická virologie (přičemž zavedeným termínem je rostlinná virologie) a fytopatologická mykologie. Analogicky s názvem rostlinná virologie se nabízel pojmenný rostlinná bakteriologie, které však bylo zamítnuto, neboť by se mohlo vztahovat nejen na fytopatogenní bakterie, ale i na jiné skupiny bakterií spjatých s rostlinami, např. i na symbiotické hlízkové bakterie. Pro upřednostnění adjektiva „rostlinolékařský“ před adjektivem „fytopatologický“ mluví snad i ta okolnost, že by mohlo být použito i v názvu nefytopatologických disciplin, např. ve spojení „rostlinolékařská zoologie“.

Revidovaná definice patovaru

Původní definice zněla takto: „Termín **patovar** se používá k označení kmene nebo souboru kmenů se stejnými nebo podobnými vlastnostmi, které jsou odlišitelné na poddruhové úrovni od jiných kmenů téhož druhu nebo

podrodu na základě rozdílné patogenity k jedné hostitelské rostlině nebo více hostitelům. Klasifikace taxonu jako patovaru nevylučuje existenci rozdílů v biochemických, sérologických nebo jiných nepatogenních vlastnostech mezi patovary téhož druhu nebo poddruhu, ale naznačuje, že jiné rozdíly na poddruhové úrovni mají v porovnání s rozdíly v patogenitě menší taxonomický význam“ (DEY et al. 1980).

K definici patovaru byl přijat tento dodatek: „Pátovary jsou obvykle rozeznatelné pomocí prokázaných rozdílů v hostitelském okruhu. Nicméně je jasné, že rozdíly v symptomech na stejném hostitelském druhu (viz např. příznaky způsobované *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* a *X. oryzae* pv. *oryzicola* na rýži) mohou ospravedlnit odlišné patovarové označení“ (YOUNG et al. 1991).

I když proti současnému patovarovému systému uplatňovanému u většiny bakteriálních fytopatogenů jsou vznášeny oprávněné námitky taxonomů, zůstává taxon patovar dosud v platnosti. Taxonomové uznávají, že patogenita je pro rostlinolékařskou praxi důležitým znakem. Zdůrazňují však, že patogenita kmenů bakterií je velmi kolísavou vlastností a během kultivace může být také nezřídka snadno ztracena. Ukazuje se však, že záměr vzdát se patovarů je v praxi velmi obtížně realizovatelný, jak o tom svědčí např. výsledky taxonomické revize u rodu *Xanthomonas* (VAUTERIN et al. 1995).

Definice patovaru dovoluje alternativní dělení patogenických druhů nebo patovarů na rasy. Rasa určité bakterie je soubor kmenů, které se liší od jiných souborů uvnitř bakteriálního druhu nebo patovaru svou hostitelskou specializací ke kultivaru nebo jiné zárodečné plazmě (germplazmě). Rasy se identifikují při využití diferenačních rostlinných hostitelů, což mohou být kultivary nebo jiné identifikovatelné zárodečné plazmy. Rasy nemají nomenklatorický status. Rasa může být označena písmeny nebo čísly.

Termín *forma specialis* není u fytopatogenních prokaryot náhradou za patovar nebo rasu. Jeho používání se sice připouští, ale termín není využíván, snad s výjimkou u patogenů, kteří jsou specializováni na neobvyklé hostitele.

Taxonomické změny na úrovni rodu

Od stavu zachyceného před více než 10 lety (KÚDELA 1987) došlo k důležitým taxonomickým změnám. Mnohé fytopatogenní prokaryotické organismy byly přefazeny z jednoho rodu do jiného, a to buď do nově ustaveného, nebo již existujícího. Zmíníme se zejména o těch změnách, které se týkají fytopatogenů potenciálně důležitých pro Evropu.

Nově byly popsány tyto rody:

Acidovorax Willems, Falsen, Pot, Jantzen, Hoste, Vandamme, Gillis, Kerster & De Ley 1990

Burkholderia Yabuuchi, Kosako, Oyaizu, Yano & Ezaki 1993

Clavibacter Davis, Gillaspie, Vidaver & Harris 1984

Herbaspirillum Baldani, Baldani, Seldin & Döberein 1986

„*Liberobacter*“ (JAGOUX et al. 1994) (jde o prozatímní návrh)

Pantoea Gavini, Mergaert, Beji, Miellecarek, Izard, Kersters & De Ley 1989

Ralstonia Yabuuchi, Kosako, Yano, Hotta & Nishiuchi 1995

Rathayibacter Zgurskaya, Evtushenko, Akimov, & Kalakoutskii 1993

Rhizobacter Goto & Kuwata 1988

Rhizomonas van Bruggen, Jochimsen & Brown 1990

Xylella Wells, Raju, Hung, Weiburg, Mandelco-Paul & Brenner 1987

Xylophilus Willems, Gillis, Kersters, Van Den Broecke & De Ley 1987

Fytopatogeni byli přefazeni do těchto již dříve existujících rodů:

Arthrobacter

Curtobacter

Enterobacter

Rhodococcus

Taxonomické změny na úrovni druhu, poddruhu a patovaru

Acidovorax

Do tohoto rodu byli z rodu *Pseudomonas* začleněni (Willems et al. 1992) tyto fytopatogeni:

A. avenae subsp. *avenae* (Manns 1909) Willems, Goor, Thielemans, Gillis, Kersters et al. 1992

A. avenae subsp. *cattleyae* (Manns 1909) Willems, Goor, Thielemans, Gillis, Kersters et al. 1992

A. avenae subsp. *citrulli* (Manns 1909) Willems, Goor, Thielemans, Gillis, Kersters et al. 1992

A. konjaci (Goto 1983) Willems, Goor, Thielemans, Gillis, Kersters et al. 1992

Agrobacterium

Výsledkem sekvenční analýzy ribozomové DNA (SAWADA et al. 1993) je revidovaný popis rodu *Agrobacterium*. V rámci rodu vyčlenili OPHEL a KERR (1990) tyto druhy:

A. radiobacter (Beijerinck & van Delten 1902) Conn 1942 (námitky proti tomuto druhu viz dále)

A. rhizogenes (Riker, Banfield, Wright & Sagen 1930) Conn 1942

A. rubi (Hildebrand) Starr & Weiss 1943

A. vitis Ophel & Kerr 1990

Druh *A. radiobacter* odpovídá již dříve definovanému biovaru 1, druh *A. rhizogenes* je identický s biovarem 2 a druh *A. rubi* a *A. vitis* s biovarem 3. Důležité je, že kmény *A. radiobacter* i *A. rhizogenes* mohou obsahovat jak plazmid Ti (tumorigenní), tak i plazmid Ri (rhizogenní). Taxon *A. radiobacter* v sobě zahrnuje typový kmen *A. tumefaciens*. Název *A. tumefaciens* byl odmítnut (SAWADA et al. 1993).

Proti zahrnutí typového kmene *A. tumefaciens* vznesl odůvodnění námitky BOUZAR (1994). OYAIZU a SA-

WADA (1994) je akceptovali a doporučili nomenklatorické justiční komisi, aby *A. tumefaciens* (Smith & Townsend 1907) Conn 1942 byl typovým kmenem pro biovar 1. Lze proto předpokládat, že zůstane zachován přes 50 let používaný název. Odmítnutým názvem je tedy *A. radiobacter*. Z fytopatologického hlediska je významné, že podle příznaků choroby a hostitelské rostliny nelze bez znalosti biochemických vlastností izolovaných agrobakterií určit, kteří z potenciálních původců se na vzniku hyperplazie, tj. nádorovitosti nebo vlasovitosti, podíleli. Jinak řečeno, příslušnost určitého kmene k biovaru 1 nebo 2 nekorresponduje s jeho schopností vyvolat nádorovitost nebo vlasovitost.

Arthrobacter

Jediným zástupcem fytopatogenních bakterií je *A. ilicis* (Mandel, Guba & Litsky) Collins, Jones & Kroppenstedt 1981, původce spály listů a výhonů cesmíny (*Ilex opaca*), který se vyskytuje v USA.

Burkholderia

Z fytopatogenů byly z rodu *Pseudomonas* převedeny do rodu *Burkholderia* tyto nefluorescentní bakterie:

B. andropogonis (Stapp 1928) Gillis, Tran Van, Bardin, Goor, Hebbbar, Willems, Segers, Kersters, Heulin & Fernandez 1995

B. caryophylli (Burkholder 1942) Yabuuchi, Kosako, Oyaizu, Yano, Hotta, Hashimoto, Ezaki & Arakawa 1993

B. cepacia (Palleroni & Holmes 1981) Yabuuchi, Kosako, Oyaizu, Yano, Hotta, Hashimoto, Ezaki & Arakawa 1993

B. gladioli (Severini 1913) Yabuuchi, Kosako, Oyaizu, Yano, Hotta, Hashimoto, Ezaki & Arakawa 1993

B. glumae (Uematsu, Yoshimura, Nishiyama, Ibaraki & Fujii 1976) Urakami, Ito-Yoshida, Araki, Kijima, Suzuki & Komagata 1994

Clavibacter

Když byl v roce navržen tento nový rod (DAVIS et al. 1984), stal se typovým druhem *Clavibacter michiganensis*: Zahnuje v sobě fytopatogeny, kteří byli původně včleněni do rodu *Corynebacterium*, kde zaujímali postavení samostatných druhů, případně poddruhů nebo patovarů.

K důležitým fytopatogenům patří:

C. michiganensis subsp. *insidiosus* (McCulloch 1926) Davis, Gillaspie, Vidaver & Harris 1984

subsp. *michiganensis* (Smith 1910) Davis, Gillaspie, Vidaver & Harris 1984

subsp. *sepedonicus* (Spieckerman & Kothoff 1914) Davis, Gillaspie, Vidaver & Harris 1984

V literatuře přetrvává používání nesprávného druhového epitetu. Na rozdíl od originálního popisu (DAVIS et

al. 1984) byl však epiteton změněn na maskulinovou formu, neboť rodová jména končící na -bacter jsou maskulina. Znamená to, že původní název *C. michiganense* subsp. *michiganense* i dalších obdobné názvy druhů a subdruhů jsou nesprávné.

V roce 1993 byli z rodu *Clavibacter* do nového rodu *Rathayibacter* převedeny tři druhy, jejichž patogenita pro obilniny a jednoleté pícní trávy je spjata s napadením háďátky rodu *Anguina* (ZGURSKAYA et al. 1993).

Curtobacterium

Uvnitř rodu *Curtobacterium* je zastoupen jediný fytopatogenní druh se čtyřmi patovary (COLLINS, JONES 1983):

C. flaccumfaciens pv. *betae* (Keyworth, Howell & Dawson 1956) Collins & Jones 1983

C. flaccumfaciens pv. *flaccumfaciens* (Hedges 1922) Collins & Jones 1983

C. flaccumfaciens pv. *oortii* (Saaltink & Maas Geesteranus 1969) Collins & Jones 1983

C. flaccumfaciens pv. *poinsettiae* (Starr & Pirone 1942) Collins & Jones 1983

Enterobacter

V tomto rodu popsáném v roce 1960 jsou zastoupeny tyto fytopatogenní druhy:

E. cancerogenus (Urošević 1966) Dickey & Zumoff 1988

E. cloacae (Jordan 1890) Hormaeche & Edwards 1960

Erwinia

S výjimkou přesunu některých erwinií do existujícího rodu *Enterobacter* (*E. cancerogenus*, *E. nimipressuralis*) a do nově vytvořeného rodu *Pantoea* nedošlo u rodu *Erwinia* k závažnějším taxonomickým změnám.

Herbaspirillum

Rod s jediným druhem *H. seropedicae* byl vytvořen v roce 1986 (BALDINI et al. 1986) pro bakterie izolované z kořenů rostlin a vzorků půdy odebraných v jejich blízkosti. Vyznačují se schopností fixace vzdušného dusíku při kultivaci v polotuhých živných půdách bez dusíku. Dříve byly tyto bakterie řazeny k rodu *Azospirillum*.

Do rodu *Herbaspirillum* byl z rodu *Pseudomonas* přeřazen druh *H. rubrisubalbicans* (Christopher & Edgerton 1930) Baldani et al. (1996), který je původcem choroby „mottled stripe disease“ u cukrové třtiny, čiroku a kukuřice. Kolonizuje kořeny, stonky a hlavně listy cukrové třtiny jako endofytický diazotrof.

„Liberobacter“

Název tohoto rodu je prozatím. Byl vytvořen pro organismy, které byly doposud považovány za MLO, když se zjistilo, že mají stěnu buněčnou a jsou gramnegativní (JAGOUEIX et al. 1994). Patří do třídy *Proteobacter* podtřídy alfa. Dosud nebyly kultivovány na umělých živných půdách. Svým způsobem života jsou vázány na floém rostlin. Způsobují okolo 20 různých chorob, z nichž nejlépe prostudovanou je zezelenání listů pomerančovníku (greening disease of citrus).

Pantoea

Nový rod byl navržen na základě výsledků analýzy fenotypových charakteristik a hybridizace DNA-DNA kmenů bakterií známých pod názvem *Erwinia herbicola*, *Enterobacter agglomerans* a *E. milletiae* (GAVINI et al. 1989).

K fytopatogenům patří (MERGAERT et al. 1993):

P. agglomerans (Beijerinck 1888) Gavini, Mergaert, Beji, Mielcarek, Izard, Kersters & De Ley 1989. Některé kmeny vyvolávají nádory na růži (*Rosa*) a na okrasné rostlině *Gypsophila paniculata*, jiné kmeny způsobují nekrózy cibule.

P. ananas (Serrano 1928) Mergart, Vendonck & Kersters 1993. Některé kmeny (známé dříve pod názvem *Erwinia ananas*) se považují za původce hniloby plůdků ananasu. Jiné kmeny (známé dříve pod názvem *Erwinia uredovora*) napadají uredia rzi *Puccinia graminis*.

P. stewartii subsp. *stewartii* (Smith 1898) Mergaert, Vendonck & Kersters 1993. Kmeny této bakterie jsou původci vadnutí kukuřice.

P. stewartii subsp. *indoligenes* Mergaert, Vendonck & Kersters 1993. Kmeny této bakterie jsou považovány za původce listové skvrnitosti béru a prosa a hniloby ananasu.

Pseudomonas

Rod *Pseudomonas* byl zásadním způsobem reklasifikován. Z fytopatogenů byla nejvíce pozměněna klasifikace nefluorescentních druhů. Část z nich byla přeřazena do nově vytvořených rodů *Burkholderia*, *Acidovorax* a *Herbaspirillum* (YABUUCHI et al. 1992; GILLIS et al. 1995; WILLEMS et al. 1992; BALDANI et al. 1996). Např. původce hnědé hniloby bramboru, známý pod jménem *P. solanacearum*, byl v krátkém časovém úseku přeřazen nejprve z rodu *Pseudomonas* do rodu *Burkholderia* a následně do rodu *Ralstonia*.

Překvapivým je vytvoření samostatného druhu *Pseudomonas savastanoi* se třemi patovary, a to pv. *savastanoi* (původce nádorů u čeledi *Oleaceae* a bradavčitých výrůstků u *Nerium oleander*), pv. *glycinea* (původce spály sóje) a pv. *phaseolicola* (původce gloriolové spály fazolu) (GARDAN et al. 1992). I nadále však přetrvává i v renomovaných vědeckých časopisech (např. *Phytopathology* nebo *Plant Pathology*) používání dřívější klasifikace, podle které pv. *phaseolicola* a pv. *glycinea* patří k druhu *P. syringae* (AUDY et al. 1996).

Ralstonia

Výsledkem taxonomického studia skupiny nefluorescentních kmenů *Pseudomonas* bylo nejprve vytvoření rodu *Burkholderia*. Následně se ukázalo, že v rámci tohoto nově vytvořeného rodu jsou mezi jednotlivými druhy natolik závažné odlišnosti, že to ospravedlňuje vylčení některých druhů do samostatného rodu. Z fytopatogenů byl do rodu *Ralstonia* zařazen druh *R. solanacearum* (Smith 1896) Yabuuchi, Kosako, Yano, Hotta & Nishiuchi 1995.

Rathayibacter

Do nového rodu vytvořeného v roce 1993 (ZGURSKAYA et al. 1993) byly zařazeny tři druhy gram pozitivních koryneformních bakterií, které byly dříve umístěny v rodu *Clavibacter*. Jsou patogenní pro obilniny a jednoleté píce trávy. V protikladu k druhům rodu *Clavibacter* je většina kmenů rodu *Rathayibacter* spojena s působením háďátek rodu *Anguina*.

K zástupcům rodu *Rathayibacter* patří:

R. rathayi (Smith 1913) Zgurskaja, Evtushenko, Akimov & Kalakoutskii 1993

R. tritici (Scharif 1961) Zgurskaja, Evtushenko, Akimov, & Kalakoutskii 1993

R. iranicus (Scharif 1961) Zgurskaja, Evtushenko, Akimov & Kalakoutskii 1993

Rhizobacter

V roce 1988 byl popsán nový fytopatogen způsobující nádorovitost na kořenech mrkve. Byl pojmenován *R. daucus* Goto & Kuwata 1988. Je řazen do čeledi *Pseudomonadaceae*.

Rhizomonas

Jediným zástupcem tohoto rodu je fytopatogen *R. suberifaciens* van Bruggen, Jochimsen & Brown 1990, který způsobuje korkovitost kořenů salátu. Etiologie této choroby byla po řadu let předmětem sporů.

Rhodococcus

Do tohoto rodu byl převeden z rodu *Corynebacterium* původce fasciace u hrachoru, fazolu a hrachu a květákovitých nádorů na řady okrasných rostlin, jehož platné jméno je nyní *Rhodococcus fascians* (Tilford 1936) Goodfellow 1984.

Streptomyces

Po mnoho let kterýkoliv izolát rodu *Streptomyces*, který způsoboval strupovitost bramboru, byl většinou fytopatologů pokládán za *S. scabies*. Tento druh však nebyl v roce 1980 zahrnut do Approved Lists (neboť chyběla akceptovatelná typová kultura) a tak se nestal součástí oficiální nomenklatury. Až v roce 1989 byl původní název navržen k obnově a následně stvrzena jeho platnost (LAMBERT, LORIA 1989).

K fytopatogenům jsou řazeny zejména tyto druhy:

S. acidiscabies Lambert & Loria 1989

S. aureofaciens Duggar 1948

S. griseus (Krainsky) Waksman & Henrici 1948

S. ipomoeae (Person & Martin) Waksman & Henrici 1948

S. scabies (Thaxter 1892) Lambert & Loria 1989

Xanthomonas

V tomto rodu, který obsahuje více než 160 fytopatogenů, došlo k nejrozsáhlejší reklasifikaci. Výsledky podrobné hybridizace DNA-DNA u 183 kmenů tohoto rodu vyústily v návrh na vytvoření 20 druhů místo dosavadních 6 druhů. V rámci těchto 20 druhů existuje okolo 140

patovarů. Zatímco v seznamu patovarů z roku 1980 (DYE et al. 1980) patřily všechny patovary k druhu *X. campestris*, podle nové klasifikace (VAUTERIN et al. 1995) k tomuto druhu přísluší jen patovary, jejichž hostitelský mi rostlinami jsou druhy rodu *Brassica*. Přesné začlenění všech patovarů do nově ustavených druhů rodu *Xanthomonas* není dosud ukončeno.

V evropských podmínkách mají význam tyto druhy a patovary:

- X. axonopodis* Starr & Garces 1950
 - pv. *alfalfae* (Riker, Jones & Davis) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
 - pv. *phaseoli* (Smith 1897) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
 - pv. *phaseoli* var. *fuscans* (Burkholder 1930) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
 - pv. *begoniae* (Tokimoto 1934) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
- X. arboricola* Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
 - pv. *corylina* (Miller, Bollen, Simmons, Gross & Barss 1944) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
 - pv. *juglandis* (Pierce 1901) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
 - pv. *pruni* (Smith 1903) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
- X. bromi* Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
- X. campestris* pv. *campestris* (Pammel 1895) Dowson 1939
- X. fragariae* Kennedy & King 1962
- X. hortorum* Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
 - pv. *carotae* (Kendrick 1934) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
 - pv. *pelargonii* (Brown 1923) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
 - pv. *vitians* (Brown 1918) Dye 1978
- X. hyacinthi* (ex Wakker 1883) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
- X. translucens* pv. *arrhenatheri* (Engli & Schmidt 1982) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
 - pv. *graminis* (Egli, Goto & Schmidt 1975) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
 - pv. *phlei* (Egli, Goto & Schmidt 1975) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
 - pv. *poae* (Egli & Schmidt 1982) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
 - pv. *translucens* (Jones, Johnson & Reddy 1917) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
 - pv. *undulosa* (Smith, Jones & Reddy 1919) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995
- X. vesicatoria* (ex Doidge 1920) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings 1995

X. populi (Ridé 1958) Ridé & Ridé 1978

Xylella

Choroby rostlin způsobované bakteriemi rodu *Xylella*, jako např. Pierceova choroba révy vinné, scald listů švestky, zakrsávání jabloně aj., byly v minulosti považovány za virózy, později za rickettsiízy. Poté, co se podařilo původce těchto chorob izolovat, kultivovat a stanovit jeho vlastnosti, byl zařazen do nového rodu *Xylella*, a to jako druh *X. fastidiosa* Wells, Raju, Hung, Weisburg, Mandelco-Paul & Brenner 1987. Očekává se, že další výsledky studií povedou k definování několika hostitelsky specializovaných forem (patovarů) v rámci tohoto rodu.

Xylophilus

Novější strukturální analýzy DNA a RNA u druhu *Xanthomonas ampelina*, původce spály révy vinné, ukázala (WILLEMS et al. 1987), že představuje zvláštní formu, která má oprávnění k vyčlenění do nového rodu.

Název dosud jediného zástupce tohoto rodu je:

X. ampelinus (Panagopoulos 1969) Willems, Gillis, Kersters, van den Broecke & De Ley 1987

Změny ve způsobu psaní vědeckých názvů fytopatogenních prokaryot

Revidovaná verze standardů pro pojmenování patovarů fytopatogenních bakterií (YOUNG et al. 1991) přináší také změnu ve způsobu psaní jejich názvů. Je-li název v publikaci použit poprvé, měl by být uveden v úplné formě, včetně autorů. Následně, pokud není žádné riziko pomýlení, nabízí se tři akceptovatelné zkratky. Tak např. *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* lze zkrátit na: 1. *P. s.* pv. *lachrymans*; 2. *P. s. lachrymans*; 3. pv. *lachrymans*.

Pro názvy původců fytoplazmóz se začíná využívat anglický název choroby, k němuž se připojí slovo „phytoplasma“, např. pear decline phytoplasma, apple proliferation phytoplasma apod.

Přehled správných názvů fytopatogenních prokaryot podle hostitelských rostlin

Názvy hospodářsky významných patogenů uvádíme ve zkrácené formě. Jména polyfágů u jednotlivých skupin hostitelů až na výjimky neopakujeme.

Polyfágové

- Agrobacterium tumefaciens* (Smith & Townsend) Conn
- Agrobacterium rhizogenes* (Riker et al.) Conn
- Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones) Bergey et al.
- Erwinia chrysanthemi* Burkholder, McFaden & Dimock
- Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall
- Pseudomonas fluorescens* (Trevisan) Migula
- Pseudomonas marginalis* (Brown) Stevens
- Pseudomonas viridiflava* (Burkholder) Dowson
- Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp
- Xylella fastidiosa* Wells et al.

Obilnina a pícní trávy

Acidovorax avenae subsp. *avenae* (Manns) Willems et al.*Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* (Smith) Mergaert et al.*Pseudomonas syringae* pv. *atropifaciens* (McCulloch) Young, Dye & Wilkie*Pseudomonas syringae* pv. *coronafaciens* (Elliott) Young, Dye & Wilkie*Pseudomonas syringae* pv. *stratifaciens* (Elliott) Young, & Wilkie*Rathayibacter rathayi* (Smith) Zgurskaya et al.*Xanthomonas bromi* Vauterin et al.*Xanthomonas translucens* pv. *arrhenatheri* (Egli & Schmidt) Vauterin et al.pv. *graminis* (Egli, Goto & Schmidt) Vauterin et al.pv. *phlei* (Egli, Goto & Schmidt) Vauterin et al.pv. *poae* (Egli & Schmidt) Vauterin et al.pv. *translucens* (Jones, Johnson & Reddy) Vauterin et al.pv. *undulosa* (Schmith, Jones & Reddy) Vauterin et al.

Luskoviny

Curtobacterium flaccumfaciens pv. *flaccumfaciens* (Hedges) Collins & Jones*Rhodococcus fascians* (Tilford) Goodfellow*Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (Burkholder) Gardan et al. [Synonymum: *P. syringae* pv. *phaseolicola* (Burkholder) Young, Dye & Wilkie]*Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* (Cooper) Gardan et al. [Synonymum: *P. syringae* pv. *glycinea* (Cooper) Young, Dye & Wilkie]*Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (Sackett) Young, Dye & Wilkie*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Smith) Vauterin et al.pv. *phaseoli* var. *fuscans* (Burkholder) Vauterin et al.

Brambor

Clavibacter michiganensis subsp. *sepedonicus* (Spieckerman & Kotthoff) Davis et al.*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (van Hall) Dye subsp. *carotovora* (Jones) Bergey et al.*Erwinia chrysanthemi* Burkholder, McFaden & Dimock*Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al.

Potato stolbur phytoplasma

Streptomyces scabies (Thaxter) Lambert & Loria

Řepa

Curtobacterium flaccumfaciens pv. *betae* (Keyworth, Howell & Dowson) Collins & Jones*Pseudomonas syringae* pv. *aptata* (Brown & Jamieson) Young, Dye & Wilkie

Slunečnice

Pseudomonas syringae pv. *helianthi* (Kawamura) Young, Dye & Wilkie

Vojtěška

Clavibacter michiganensis subsp. *insidiosus* (McCulloch) Davis et al.

Košťáloviny

Pseudomonas marginalis pv. *marginalis* (Brown) Stevens*Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young, Dye & Wilkie*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson pv. *armoraciae* (McCulloch) Dye

Kořenová zelenina

Pseudomonas syringae pv. *apii* (Jagger) Young, Dye & Wilkie*Rhizobacter daucus* Goto & Kuwata

Listová zelenina

Rhizomonas suberifaciens van Bruggen, Jochimsen & Brown*Xanthomonas hortorum* pv. *vitians* (Brown) Dye

Plodová zelenina

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al.*Pseudomonas corrugata* Roberts & Scarlett*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (Smith & Bryan) Young, Dye & Wilkie
pv. *tomato* (Okabe) Young, Dye & Wilkie*Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al.

Potato stolbur phytoplasma

Xanthomonas vesicatoria (ex Doidge) Vauterin et al.

Cibulová zelenina

Burkholderia cepacia (Palleroni & Holmes) Yabuuchi et al.*Burkholderia gladioli* (Severini) Yabuuchi et al.

Jahodník

Strawberry witches' broom phytoplasma

Xanthomonas fragariae Kennedy & King

Réva vinná

Agrobacterium vitis Ophel & Kerr

Grapevine flavescence dorée phytoplasma

Xylophilus ampelinus (Panagopoulos) Willems et al.*Xylella fastidiosa* Wells et al.

Ovocné dřeviny

Agrobacterium rubi (Hildebrand) Starr & Weiss

Apple proliferation phytoplasma

Apricot chlorotic leafroll phytoplasma

Erwinia amylovora (Burrill) Winslow et al.

Peach rosette phytoplasma

Peach X-disease phytoplasma
 Peach yellows phytoplasma
 Pear decline phytoplasma
Pseudomonas syringae pv. *morsprunorum* (Wormald)
 Young, Dye & Wilkie
 pv. *persicae* (Prunier et al.)
 Young, Dye & Wilkie
Xanthomonas arboricola pv. *corylina* (Miller et al.) Vauterin et al.
 pv. *juglandis* (Pierce) Vauterin et al.
 pv. *pruni* (Smith) Vauterin et al.

Xylella fastidiosa Wells et al.

Okrasné rostliny

Burkholderia caryophylli (Burkholder) Yabuuchi et al.
Burkholderia gladioli (Severini) Yabuuchi et al.
Curtobacterium flaccumfaciens pv. *oortii* (Saaltink & Maas Geesteranus)
 Collins & Jones
 pv. *poinsetiae* (Starr & Pirone) Collins & Jones

Erwinia chrysanthemi pv. *dianthicola* (Hellmers) Bakker
Pseudomonas savastanoi pv. *savastanoi* (Smith) Gardan et al.

Rhodococcus fascians (Tilford) Goodfellow & Alderson
Xanthomonas axonopodis pv. *begoniae* (Tokimoto) Vauterin et al.

Xanthomonas hortorum pv. *pelargonii* (Brown) Vauterin et al.
 pv. *hederae* (Arnaud) Vauterin et al.

Xanthomonas hyacinthi (ex Wakker) Vauterin et al.

Lesní dřeviny

Elm phloem necrosis phytoplasma
Enterobacter cancerogenus (Urošević) Dickey & Zumoff
Pseudomonas savastanoi pv. *savastanoi* (Smith) Gardan et al.

Xanthomonas populi (Ridé) Ridé & Ridé

Žampiony

Pseudomonas agarici Young
Pseudomonas tolaasii Paine

Shrnutí

V klasifikaci mikroorganismů dochází k neustálým změnám. Pokrok v upřesňování klasifikace bakterií je mnohdy doprovázen radikálními změnami v nomenklatuře. Obdobně je tomu i ve virologii a mykologii. Příliš radikální a časté změny v nomenklatuře mohou být nežádoucí překážkou v porozumění mezi praktickými uživateli nomenklatury, např. ve fytokaranténě. Ne vždy je volání po stabilizaci nomenklatury vyhověno. Nezbyvá proto než všechny mezinárodně platné nomenklatorické

změny registrovat a uplatňovat. Protiváhou měnícímu se vědeckému názvosloví fytopatogenních organismů by měly být ustálené obecné názvy chorob rostlin. Je proto nanejvýš aktuální přikročit k standardizaci českého názvosloví chorob rostlin a odstranit tak naprosto nevyhovující dosavadní libovůli v jejich tvorbě a používání. Doporučené české názvy chorob by měly být považovány za preferované názvy k použití ve vědeckých a odborných časopisech i jiných publikacích.

Literatura

- AUDY P., BRAAT C. E., SAINDON G., HUANG H. C., LAROCHE A. (1996): A rapid and sensitive PCR-based assay for concurrent detection of bacteria causing common and halo blight in bean seed. *Phytopathology*, 86: 361–366.
- BALDANI J. I., BALDANI V. L. D., SELDIN L., DÖBEREINER J. (1986): Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a root-associated nitrogen-fixing bacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 36: 86–93.
- BALDANI J. I., POT B., KIRCHHOF G., FALSEN E., BALDANI V. L. D., OLIVARES F. L., HOSTE B., KERSTERS K., HARTMANN A., GILLIS M., DÖBEREINER J. (1996): Emended description of *Herbaspirillum*; inclusion of [*Pseudomonas*] *rubrisubalbicans*, a mild plant pathogen, as *Herbaspirillum rubrisubalbicans* comb. nov.; and classification of a group of clinical isolates (EF Group 1) as *Herbaspirillum* species 3. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 46: 802–810.
- BRUGGEN A. H. C. van, JOCHIMSEN K. N., BROWN P. R. (1990): *Rhizomonas suberifaciens* gen. nov., sp. nov., the causal agent of corky root of lettuce. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 40: 175–188.
- BOUZAR H. (1994): Letter to editor: Request for a judicial opinion concerning the type of *Agrobacterium*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 44: 373–374.
- CCM (1996): Seznam platných jmen bakterií publikovaných do září 1995. Brno, Česká sbírka mikroorganismů MU (CCM).
- COLLINS M. D., JONES D. (1983): Reclassification of *Corynebacterium flaccumfaciens*, *Corynebacterium betae*, *Corynebacterium oortii* and *Corynebacterium poisentiae* in the genus *Curtobacterium flaccumfaciens* comb. nov. *J. Gen. Microbiol.*, 129: 3545–3548.
- DAVIS M. J., GILLASPIE A. G., VIDAVER A. K., HARRIS R. W. (1984): *Clavibacter*: a new genus containing some phytopathogenic coryneform bacteria, including *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* sp. nov., subsp. nov. and *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* subsp. nov., pathogens that cause ratoon stunting disease of sugarcane and Bermudagrass stunting disease. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 32: 107–117.
- DYE D. W., BRADBURY J. F., GOTO M., HAYWORD A. C., LELLIOT R. A., SCROTH M. N. (1980): International standard for naming pathovars of phytopathogenic bacteria and a list of pathovar names and pathogenic strains. *Rev. Plant Pathol.*, 59: 153–168.
- GARDAN L., BOLLET T. C., ABU CHORRAH M., GRIMONT F., GRIMONT P. A. D. (1992): DNA relatedness among the pathovar strains of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi*

- Janse (1982) and proposal of *Pseudomonas savastanoi* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 42: 606–612.
- GAVINI F., MERGAERT J., BEJI A., MIELCAREK D., IZARD D., KERSTERS K., DE LEY J. (1989): Transfer of *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck 1888) Ewing and Fife 1972 to *Pantoea* gen. nov. as *Pantoea agglomerans* comb. nov. and description of *Pantoea dispersa* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 39: 337–345.
- GILLIS M., TRAN V. van, BARDIN R., GOOR M., HEBBAR P., WILLEMS A., SEGERS P., KERSTERS K., HEULIN T., FERNANDEZ M. P. (1995): Polyphasic taxonomy in the genus *Burkholderia* leading to an emended description of the genus and proposition of *Burkholderia vietnamiensis* sp. nov. for N₂-fixing isolates from rice in Vietnam. Int. J. Syst. Bacteriol., 45: 274–289.
- GOOTFELLOW M. (1984): Reclassification of *Corynebacterium fascians* (Tilford) Dowson in the genus *Rhodococcus*, as *Rhodococcus fascians* comb. nov. Syst. Appl. Microbiol., 5: 225–229.
- GOTO M. (1992): Fundamentals of Bacterial Plant Pathology. San Diego, Academic Press.
- GOTO M., KUWATA H. (1988): *Rhizobacter daucus* gen. nov., sp. nov., the causal agent of carrot gall. Int. J. Syst. Bacteriol., 38: 233–239.
- JAGOUËX S., BOVE J.-M., GARNIER M. (1994): The phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the a subdivision of the *Proteobacteria*. Int. J. Syst. Bacteriol., 44: 379–386.
- KREIG N. R., HOLT J. G. (1984): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 8th Ed. Baltimore, Williams & Wilkins.
- KÚDELA V. (1982): Změny v klasifikaci a nomenklatuře fytopatogenních bakterií. Ochr. Rostl., 18: 305–309.
- KÚDELA V. (1987): Platné názvy fytopatogenních bakterií a mykoplasmat. Ochr. Rostl., 23: 233–240.
- LAMBERT D. H., LORIA R. (1989): *Streptomyces scabies* sp. nov., nom. rev. Int. J. Syst. Bacteriol., 39: 389–392.
- LAPAGE S. P., SNEATH P. H. A., LESSEL E. F., SKERMAN V. B. D., SEELINGER H. P. R., CLARK W. A. (1992): International code of nomenclature of bacteria (1990 revision). Editor for the 1992 edition, Sneath P. H. A. Washington, D.C., American Society for Microbiology.
- MERGAERT J., VERDONCK L., KERSTERS K. (1993): Transfer of *Erwinia ananas* (synonym *Erwinia uredovora*) and *Erwinia stewartii* to the genus *Pantoea* emend. as *Pantoea ananas* (Serrano 1928) comb. nov. and *Pantoea stewartii* (Smith 1898) comb. nov., respectively, and description of *Pantoea stewartii* subsp. *indologenes* subsp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 43: 162–173.
- OPHEL K., KERR A. (1990): *Agrobacterium vitis* sp. nov. for strains of *Agrobacterium* biovar 3 from grapevines. Int. J. Syst. Bacteriol., 40: 236–241.
- OYAIZU H., SAVADA H. (1994): Authors reply. Int. J. Syst. Bacteriol., 44: 374.
- RIPKA R., DERUELLES J., WATERBURY J. B., HERDMAN M., STANIER E. Y. (1979): Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. J. Gen. Microbiol., 111: 1–61.
- SAWADA H., IEKI H., OYAIZU H., MATSUMOTO S. (1993): Proposal for rejection of *Agrobacterium tumefaciens* and revised description for the genus *Agrobacterium* and for *Agrobacterium radiobacter* and *Agrobacterium rhizogenes*. Int. J. Syst. Bacteriol., 43: 694–702.
- SEEMÜLLER E., SCHNEIDER B., MÄURER R., AHRENS U., DAIRE X., KISON H., LORENZ K.-H., FIRRAO G., AVINENT L., SEARS B. B., STACKERBRANDT E. (1994): Phylogenetic classification of phytopathogenic *Mollicutes* by sequence analysis of 16S ribosomal DNA. Int. J. Syst. Bacteriol., 44: 440–446.
- SIGEE D. C. (1993): Bacterial Plant Pathology: Cell and Molecular Aspects. Cambridge, Cambridge Univ. Press.
- SKERMAN V. B. D., MCGOVAN V., SNEATH P. H. A. (Eds) (1980): Approved lists of bacterial names. Int. J. Syst. Bacteriol., 30: 225–420.
- TRÜPER G. (1994): Taxonomic notes: names for the higher taxa and their impact on the code of nomenclature of bacteria. Int. J. Syst. Bacteriol., 44: 368–369.
- URAKAMI T., ITO-YOSHIDA H., ARAKI H., KIJIMA T., SUZUKI K. I., KOMAGATA K. (1994): Transfer of *Pseudomonas plantarii* and *Pseudomonas glumae* to *Burkholderia* as *Burkholderia* spp. and description of *Burkholderia vanaii* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 44: 235–245.
- VAUTERIN L., HOSTE B., KERSTERS K., SWINGS J. (1995): Reclassification of *Xanthomonas*. Int. J. Syst. Bacteriol., 45: 472–489.
- WELLS J. M., RAJU B. C., HUNG H.-Y., WEISBURG W. G., MANDELCO-PAUL L., BRENNER D. J. (1987): *Xylella fastidiosa* gen. nov., sp. nov.: gram-negative, xylem-limited, fastidious plant bacteria related to *Xanthomonas* spp. Int. J. Syst. Bacteriol., 37: 136–143.
- WILLEMS A. E., FALSEN E., POT B., JANTZEN E., HOSTE B., VANDAMME P., GILLIS M., KERSTERS K., LEY J. de (1992): *Acidovorax*, a new genus for *Pseudomonas facilis*, *Pseudomonas delafieldii*, EF group 13, EF group 16, and several clinical isolates, with the species *Acidovorax facilis* comb. nov., *Acidovorax delafieldii* comb. nov., and *Acidovorax temperans* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 40: 384–398.
- WILLEMS A., GILLIS M., KERSTERS K., BROECKE L. van den, LEY J. de (1987): Transfer of *Xanthomonas ampelina* Panagopoulos 1969 to a new genus, *Xylophilus* gen. nov., as *Xylophilus ampelinus* (Panagopoulos 1969) comb. nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 37: 422–430.
- WILLEMS A., GOOR M., THIELEMANS S., GILLIS M., KERSTERS K., DE LEY J. (1992): Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* subsp. nov., comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp. *citrullii*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleye*, and *Acidovorax konjaki*. Int. J. Syst. Bacteriol., 42: 107–119.
- WOESE C. R., KANDLER O., WHEELIS M. L. (1990): Towards a natural system of organisms. Proposal for the domains *Archaea* and *Bacteria*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87: 4576–4579.
- YABUUCHI E., KOSAKO Y., YANO I., HOTTA H., NISHIUCHI Y. (1995): Transfer of two *Burkholderia* and *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. nov.: Proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Douderoff 1973) comb. nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. nov., and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. nov. Microbiol. Immunol., 39: 397–404.
- YABUUCHI E., KOSAKO Y., OYAIZU H., YANO I., HOTTA H., HASMIMOTO Y., EZAKI T., ARAKAWA M. (1992): Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and transfer of seven species to the genus *Pseudomonas* homology group II to the new ge-

- nus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Holmes 1981) comb. nov. *Microbiol. Immunol.*, 36: 1251–1275.
- YOUNG J. M., BRADBURY J. F., DAVIS R. E., DICKEY R. S., ERCOLANI G. L., HAYWARD A. C., VIDAVER A. K. (1991): Nomenclatural revisions of plant pathogenic bacteria and list of names 1980–1988. *Rev. Plant Pathol.*, 70: 211–221.
- YOUNG J. M., SADLER G. M., TAKIKAWA Y., BOER S. H. de, VAUTERIN L., GARDAN L., GVOZDYAK R. (1996): Names of plant pathogenic bacteria 1864–1995. *Rev. Plant Pathol.*, 75: 721–763.
- YOUNG J. M., TAKIKAWA Y., GARDAN L. (1992): Changing concepts in the taxonomy of plant pathogenic bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 30: 67–105.
- ZGURSKAYA H. I., EVTUSHENKO L. I., AKIMOV V. N., KALAKOUTSKII L. V. (1993): *Rathayibacter* gen. nov., including the species *Rathayibacter rathayi* comb. nov., *Rathayibacter rathayi* comb. nov., *Rathayibacter tritici* comb. nov., *Rathayibacter iranicus* comb. nov., and six strains from annual grasses. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 43: 143–149.

Kontakní adresa:

Prof. Ing. Václav Kudela, DrSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, odbor rostlinolékařství, 161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika, tel: + 420 2 330 22 287, fax: + 420 2 365 228, e-mail: kudela@hb.vurv.cz

Information

Informace

Využití prostředků ochrany rostlin v České republice

Josef ROUSEK, Jaroslava ČECHOVÁ

State Phytosanitary Administration, Prague, Czech Republic

ROUSEK J., ČECHOVÁ J. (1998): Use of plant protection products in the Czech Republic. Pl. Protect. Sci., 34: 79–80.

Data of usage of plant protection products (PPP) in the Czech Republic were collected by State Phytosanitary Administration. In tables the area treated, use of PPP in tons and costs in KC per ha are compared for the period 1993–1997. In 1997, 8980 t of PPP were used, i.e. 3889 t of active ingredients, and 2.10 kg pesticides per ha of agricultural area, i.e. 0.91 kg a.i./ha.

pesticides; usage; treated fields; costs per hectare

Na základě údajů shromážděných Státní rostlinolékařskou správou uvádíme informace o využití prostředků ochrany rostlin v České republice za rok 1997 a srovnání s předešlým obdobím.

Od roku 1989 nastal pokles v používání pesticidů v důsledku ekonomických problémů. V našem předešlém příspěvku (ROUSEK 1997) jsme uvedli rozsah ošetřených ploch přípravy na ochranu rostlin v České republice v letech 1993–1996. V roce 1996 bylo ošetřeno 4,774 mil. ha a v loňském roce jsme zaznamenali nárůst na 5,04 mil. ha. V přepočtu na procenta ošetřené zemědělské půdy byl v posledních letech nárůst na 111,5 %, resp. 117,9 % rozlohy zemědělské půdy.

Celková spotřeba přípravků na ochranu rostlin v České republice činila v roce 1997 8 980 t, což je o 216 t (2,4 %) méně než v roce předešlém. V účinných látkách to představuje 3 889 t, což znamená snížení o 9 t proti roku 1996.

V přepočtu na 1 ha zemědělské půdy bylo v roce 1997 použito 2,10 kg hotových produktů, což představuje v účinných látkách 0,91 kg/ha. Tato množství se příliš neliší od let předešlých. Například v letech 1993 a 1995 bylo shodně použito 0,88 kg účinných látek na 1 ha. Vysvětlení proč stoupá rozsah ošetřené plochy, ale nestoupá množství použitých přípravků, spočívá v tom, že v zemědělské praxi získávají stále větší oblibu přípravky používané v nízkých hektarových dávkách. Jako příklad mohou sloužit sulfonylmočoviny. V roce 1996 jich bylo použito téměř 20 t, z toho 11 t v obilninách a 7 t v kukuřici. V roce 1997 bylo celkem aplikováno 22,75 t, z toho 15 t v obilninách a 6,4 t v kukuřici. Pokles v kukuřici je zapříčiněn snížením její výměry.

Tab. 1 udává přehled vývoje spotřeby pesticidů od roku 1993 podle jednotlivých kategorií. V užívání herbicidů nedochází k podstatným změnám.

Použití fungicidů, zejména v obilninách v dlouhodobém horizontu stoupá. V roce 1997 nebylo dosaženo úrovně použití fungicidů z roku 1996, a to především v důsledku průběhu počasí, které v převážné části roku nebylo příznivé pro infekce původců chorob.

Ošetření proti škůdcům nebylo rovněž nutné v takovém rozsahu jako v roce předešlém. Udržel se rozsah ošetření proti škůdcům řepky a hrachu. V dalších významných položkách došlo k poklesu výkonů. Týká se to ošetření proti mandelince bramborové a přenašečům virů v bramborách, ošetření především proti kohoutkům v obilninách a cukrovky proti mšici makové. Ve chmelu a brukvovitě zelenině je pokles rozsahu ošetření dán snížením ploch jejich pěstování.

Po špatných zkušenostech s poléháním porostů obilnin v roce 1996 se zvýšil rozsah ošetření regulátory růstu (1997 – 154 tis. ha, zatímco v 1996 – 106 tis. ha).

Pokud srovnáváme množství použitých přípravků na 1 ha ve sledovaných plodinách v roce 1997, nejintenzivněji ošetřovanou kulturou je chmel, u něhož bylo použito 29,5 kg přípravků na 1 ha, z čehož 23,5 kg tvořily fungicidy. Další v pořadí jsou vinná réva (21,6 kg/ha), ovocné kultury (14,5 kg/ha) a cukrovka (8,8 kg/ha). V obilninách bylo použito 2,3 kg pesticidních produktů na 1 ha osevní plochy.

Při srovnání ošetřených ploch (v ha) sledovaných plodin se na prvním místě umístila réva vinná, která byla v roce 1997 v průměru ošetřena jedenáctkrát, na dalším místě je chmel (ošetřen téměř pětkrát), ovocné sady (čty-

Tab. 1. Spotřeba přípravků na ochranu rostlin v letech 1993–1997 v ČR – Use of plant protection products in 1993–1997 in the Czech Republic

Kategorie pesticidů ¹	1993	1994		1995		1996		1997	
	(100%)	t	%	t	%	t	%	t	%
Herbicidy a desikanty ²	5 413	6 062	112,0	6 014	111,1	5 995	110,8	5 975	110,4
Fungicidy a mořidla ³	1 864	1 625	87,2	1 929	103,5	2 263	121,4	1 899	101,9
Zoocidy ⁴	505	590	116,8	358	70,9	426	84,4	549	108,7
Regulátory růstu ⁵	257	284	110,5	280	108,9	319	124,1	431	167,7
Ostatní ⁶	413	131	31,7	195	47,2	193	46,7	124	30,0
Celkem ⁷	8 452	8 692	102,8	8 776	103,8	9 196	108,8	8 978	106,2

¹pesticides categories; ²herbicides and desiccants; ³fungicides and seed treatment; ⁴zoocides; ⁵growth regulators; ⁶others; ⁷total

Tab. 2. Vývoj nákladů na přípravky na ochranu rostlin v některých plodinách – Development of costs for plant protection products in some crops

Plodina/rok ¹	1993	1994		1995		1996		1997	
	(100%)	Kč/ha	%	Kč/ha	%	Kč/ha	%	Kč/ha	%
Obilniny ²	571	676	118,4	919	160,9	932	163,2	1 122	196,5
Kukuřice ³	513	873	170,2	1 446	281,9	1 186	231,2	1 232	240,2
Luskoviny ⁴	1 282	1 207	94,1	1 446	112,8	1 646	128,4	1 741	135,8
Cukrovka ⁵	2 893	4 597	158,9	5 041	174,2	6 120	211,5	6 285	217,2
Brambory ⁶	1 662	1 591	95,7	2 269	136,5	2 425	145,9	2 438	146,7
Řepka ⁷	1 430	2 003	140,1	2 107	147,3	2 328	162,8	2 475	173,1
Náklady na 1 ha zem. p. ⁸	569	693	121,8	871	153,1	920	161,7	988	173,6

¹crops/year; ²cereals; ³maize; ⁴legumes; ⁵sugar beet; ⁶potatoes; ⁷rape; ⁸costs per ha agricultural soil

ři ošetření) a cukrovka (3,6krát). Jeden hektar obilnin byl průměrně ošetřen 1,6krát.

V tab. 2 jsou srovnány náklady na ošetření 1 ha některých plodin. Celkově zemědělci v roce 1997 zaplatili za přípravky 4,24 mld. korun, což na hektar zemědělské půdy představuje 990,- Kč. Od roku 1993 nárůst hodnoty finančních prostředků v celkovém objemu používaných přípravků představuje 74 %. Hlavní nárůst v obilninách, kukuřici a cukrovce představuje změna spektra herbicidů v souvislosti s posunem ve společenstvech plevelů. V kukuřici nastal nejvyšší nárůst, a to zejména v souvislosti s nástupem nových přípravků proti pýru, ježatce kuří noze a laskavcům. Rovněž v cukrovce nastal výrazný nárůst hodnoty používaných herbicidů. Naopak v luskovinách, bramborách a řepce ozimé se spektrum používaných přípravků a jejich finanční hodnota na 1 ha proti průměrné ceně příliš nezměnila.

Časová řada výkonů v ochraně rostlin a spotřebě pesticidů má hodnotu pro všechny subjekty, kterých se tyto údaje týkají. Velmi významné je i mezinárodní srovnání. V rámci Evropské unie je s součinností s OECD připravována směrnice o průzkumu použití pesticidů v jednotlivých zemích. V rámci těchto průzkumů se předpokládá sběr ještě širšího okruhu dat než je v současnosti požadováno v České republice. Po nabytí účinnosti výše uvedené směrnice předpokládáme plné přijetí systému, který bude používán v EU.

Literatura

ROUSEK J. (1997): Používání pesticidů v České republice v letech 1993–1996. Ochr. Rostl., 33, 311–314.

Kontaktní adresa:

Ing. Josef Rousek, Státní rostlinolékařská správa, Těšnov 17, 117 05 Praha 1, Česká republika, tel.: + 420 2 2181 2871, fax: + 420 2 2181 2804

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

The responsibility for the contents of a manuscript rests with the authors. They are strongly advised to get a critical review before submitting a manuscript. The Editorial Board will decide on publication, after considering the manuscripts scientific importance, contribution and quality, and the opinions and reviews by experts.

The manuscript should be typed with a wide margin, double spaced on standard A4 paper. A PC diskette with the complete text and including references, tables and figure legends of graphical documentation should be provided with manuscript, indicating the used editor program.

Manuscript should consist of the following sections: Title page, Abstract, Keywords, an instruction, Materials and Methods, Results, Discussion, References, Tables, Legends to figures.

The Title page must contain an informative title, complete name(s) of the author(s), the name(s) and address(es) of the institution(s) 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 should state in short and concise form what was done and how, and should contain basic numerical and statistical data from the results. Keywords follow the abstract; they are ranked from general to specific terms, and are written in lower case letters and separated by semicolons.

The introduction (without a subtitle) should consist of a short review of literature relevant and important for the study. The reason(s) for the work may be included.

In **Materials and Methods**, the description of experimental procedures should be sufficient to allow replication. Organisms must be identified by scientific name, including author. Abbreviations can be used if necessary; first use of an abbreviation should be just after its complete name or description. The International System of Units (SI) and their abbreviations should be used.

Results should be presented clear and concise.

The **Discussion** should interpret the results, without unnecessary repetition. Sometimes it is possible or advantageous to combine Results and Discussion in one section.

If Acknowledgments are needed, they are next.

References in the text to citations consist of author's name and year of publication. If there are more than two authors, only the first is named, followed by the phrase 'et al.'. The list of References should include only publications quoted in the text. These should be in alphabetical order under the first author's name, citing all authors, year (in brackets), full title of the article, abbreviation of the periodical, volume number, first and last page numbers.

Tables and Figures shall be enclosed separately. Tables are numbered in Roman, Figures in Arabic numerals. Each of them must be referred to in the text. Figures should be restricted to material essential for documentation and understanding of the text. Duplicated documentation of data in both tables and figures is not acceptable. All illustrative material must be of publishing quality. Both line drawing and photographs are referred to as figures. They cannot be redrawn by publisher. Photographs should have high contrast. Each figure should be accompanied by a concise, descriptive legend.

Reprint: Thirty (30) reprint of each paper are supplied free of charge.

POKYNY PRO AUTORY

Autor je plně odpovědný za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu i kvalitě práce.

Rukopis (text, tabulky, literatura, abstrakt a závěr) musí být psány s dvojitými mezerami mezi řádky na papíru formátu A4. K rukopisu je vhodné přiložit disketu s textem práce, popř. grafickou dokumentací pořízenou na PC s uvedením použitého programu.

Vědecké práce musí mít toto členění: titulní strana, abstrakt a klíčová slova, krátký přehled literatury (bez nadpisu úvod), materiál a metody, výsledky, diskuse, literatura, tabulky a obrázky včetně popisů.

Titulní strana musí obsahovat název práce, plné jméno autorů, název a adresu instituce, kde byla práce dělána, akademické, vědecké a pedagogické tituly, číslo telefonu a faxu a e-mail adresu kontaktního autora.

Souhrn musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, má obsahovat základní číselné údaje včetně statistických hodnot. Nemá překročit 120 slov. Klíčová slova (KEY words, index terms) se připojují po vynechání řádku pod souhrn. Řadí se směrem od obecnějších výrazů ke konkrétním; začínají malým písmenem a oddělují se středníkem.

Materiál a metody: Popis metod by měl umožnit, aby kdokoli z odborníků mohl práci opakovat. Uváděné organismy je nutné popsat vědeckými jmény včetně autorů. Metody se popisují pouze tehdy, jsou-li původní. Zkratky jsou používány jen pokud je to nutné; první použití zkratky musí být uvedeno úplným popisem nebo vysvětlením. V názvu práce a v souhrnu je vhodné zkratky nepoužívat. Používané měrové jednotky musí odpovídat soustavě měrových jednotek SI.

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

Diskuse obsahuje zhodnocení práce. Je přípustné spojení s předchozí kapitolou (Výsledek a diskuse).

Poděkování se zařazuje za Diskusi.

Literatura: Odkazy na literaturu v textu se provádějí uvedením jména autora a roku vydání publikace. Při větším počtu autorů se v textu uvádí první z nich a za jméno se doplní zkratka „et al.“. V části Literatura se uvádějí jen práce citované v textu. Citace se řadí abecedně podle jména prvního autora: příjmení (verzátkami), zkratka jména, rok vydání (v závorce), plný název práce, úřední zkratka časopisu, ročník, první–poslední stránka; u knih je uvedeno místo vydání a vydavatel.

Tabulky a obrázky: Tabulky, obrázky a fotografie se dodávají zvlášť a všechny musí být citovány v práci. Akceptovány budou jen obrázky, které jsou nezbytné pro dokumentaci výsledků a umožňují pochopení textu. Není přípustné dokumentovat výsledky jak v tabulkách, tak na grafech. Všechny ilustrativní materiály musí mít kvalitu vhodnou pro tisk. Fotografie i grafy jsou v textu uváděny jako obrázky a musí být průběžně číslovány. Každý obrázek musí mít stručný a výstižný popis.

Separáty: Autor obdrží zdarma 30 separátů výtisků práce.

Contents	Obsah	
Enzyme-amplified ELISA for detection of beet mild yellowing virus in aphids	ELISA s amplikovaným enzymem pro detekci viru mírného žloutnutí řepy ve mšicích	J. POLÁK 45
Mite fauna of stored grain in the Czech Republic	Současná fauna roztočů v obilních skladech v České republice	E. ŽDÁRKOVÁ 49
Fire blight resistance in hawthorn	Rezistence hlohů ke spále růžovitých rostlin	J. KORBA, S. PATÁKOVÁ, V. KÚDELA 53
SHORT COMMUNICATION	KRÁTKÉ SDĚLENÍ	
Determination of optimal concentration of <i>Erwinia amylovora</i> and <i>Pantoea agglomerans</i> antigens in the slide agglutination reaction	Stanovení optimální koncentrace bakterií <i>Erwinia amylovora</i> a <i>Pantoea agglomerans</i> při sklíčkové aglutinační reakci	I. PÁNKOVÁ, I. MRÁZ, K. PETRZIK 59
The effect of nutrient medium on growth of <i>Escherichia coli</i> bacteria with pBI 121 plasmid DNA	Vliv živného média na růst bakterií <i>Escherichia coli</i> s plazmidem pBI 121	I. MRÁZ, K. PETRZIK, M. ŠÍP 63
<i>Cameraria ohridella</i> also on <i>Acer</i> spp.	Klíněnka jírovcová (<i>Cameraria ohridella</i>) napadá také javor	F. GREGOR, Z. LAŠTŮVKA, R. MRKVA. 67
REVIEW	REVIEW	
Changes in the taxonomy of phytopathogenic prokaryotes in the period 1987–1997	Změny v taxonomii fytopatogenních prokaryot v letech 1987–1997	V. KÚDELA 69
INFORMATION	INFORMACE	
Use of plant protection products in the Czech Republic	Využití prostředků ochrany rostlin v České republice	J. ROUSEK, J. ČECHOVÁ 79