

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Možnosti využití biologicky aktivních látek proti
rostlinným virům**

Bakalářská práce

Autor práce: Lucie Kolbasová

Obor studia: Zahradnictví (ABZ)

Vedoucí práce: Ing. Adéla Fraňková, Ph.D.

© 2019 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Možnosti využití biologicky aktivních látek proti rostlinným virům" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Adéle Fraňkové, Ph.D. za cenné rady při konzultacích a dále bych chtěla poděkovat své rodině za podporu.

Možnosti využití biologicky aktivních látek proti rostlinným virům

Souhrn

Tato práce se věnuje možnostem využití biologicky aktivních látek proti rostlinným virům, které by mohly do jisté míry nahradit komerční syntetické přípravky používané k ochraně rostlin. Syntetické přípravky často působí nepříznivě na necílové organismy, životní prostředí i lidské zdraví a jejich nadměrné používání ničí ekosystém. Stále častěji jsou proto vyhledávané alternativní přípravky, které svým působením mohou u rostlin vyvolat rezistenci vůči patogenu a hmyzímu škůdci. Současné studie naznačují, že sekundární metabolity by mohly být využity v boji proti patogenům jako ekologická alternativa chemických pesticidů.

V této práci nalezneme přípravky působící na přenašeče virových onemocnění ale i možnosti, jak u rostlin vyvolat rezistenci vůči virům žluté zakrslosti ječmene (BYDV), virové zakrslosti pšenice (WDV), virové mozaiky chmele (HpMV), arabis mozaiky viru na chmelu (ArMV), latentní B-virózy chmele (PNRSV), virové kreslené mozaice chmele (ApMV). Uvedené virové choroby působí nejčastěji ekonomické ztráty v porostech obilovin a v porostech chmele jak na výnosu, tak na kvalitě. U každého viru je pak popsána aktuální možnost ochrany.

Klíčová slova: rostlinné viry, kyselina salicylová, biologicky aktivní látky, indukovaná resistance, protivirový, botanické pesticidy

Antiviral activity of biological active substances against plant viruses

Summary

This paper concerns with possibilities of using biological active substances against plant viruses which could, to some extent, replace commercial synthetic products used for plant protection. Often, synthetic products have adverse effect on non-target organisms, the environment and human health, and their excessive use destroys ecosystem. Alternative preparations are therefore increasingly sought, which can cause resistance against plant pathogens and insect pest. Current studies suggest that secondary metabolites could be used to combat pathogens as an ecological alternative to chemical pesticides.

In this work we find the agents acting on the carriers of viral diseases as well as the possibilities how to induce the resistance of the viruses barley yellow dwarf virus (BYDV), wheat dwarf virus (WDV), hop mosaic virus (HpMV), arabis mosaic virus (ArMV), prunus necrotic ringspot virus (PNRSV), apple mosaic virus (ApMV). These viral diseases most often cause economic losses in cereal crops and hop in terms of yield and quality. The current protection is described for each virus.

Keywords: plant viruses, salicylic acid, botanical pesticides, induced resistance, biologically active compounds, antiviral

Obsah

1	Úvod	1
2	Cíl práce	2
3	Viry	3
3.1	Obecná charakteristika virů	3
3.2	Struktura virů	4
3.3	Taxonomie virů	5
3.4	Rostlinné viry	5
4	BYDV – Virus žluté zakrslosti ječmene (Barley yellow dwarf virus)	6
4.1	Taxonomické zařazení	6
4.2	Popis	7
4.3	Přenos viru	7
4.4	Hostitelské rostliny a příznaky	9
4.5	Ochrana	9
4.5.1	Chemická ochrana	10
5	WDV - Virová zakrslost pšenice (Wheat dwarf virus)	11
5.1	Taxonomické zařazení	11
5.2	Popis patogenu	11
5.3	Přenos viru	11
5.4	Hostitelské rostliny a příznaky	12
5.5	Ochrana	12
5.5.1	Monitoring	13
5.5.2	Odolné odrůdy	13
5.5.3	Chemická ochrana	13
6	HpMV – Virová mozaika chmele (Hop mosaic virus)	14
6.1	Taxonomické zařazení	14
6.2	Popis patogenu	14
6.3	Přenos viru	14
6.4	Hostitelské rostliny a příznaky	15
6.5	Ochrana	16
6.5.1	Chemická ochrana	16
7	ArMV - Arabis mosaic virus na chmelu (Arabis mosaic virus)	17
7.1	Taxonomické zařazení	17
7.2	Popis patogenu	17
7.3	Přenos viru	18
7.4	Hostitelské rostliny a příznaky	18
7.5	Ochrana	18

8	Virová kreslená mozaika chmele, latentní B-viróza chmele	19
8.1	ApMV - Virus mozaiky jabloně (Apple mosaic virus)	19
8.1.1	Taxonomické zařazení.....	19
8.2	PNRSV - Virus nekrotické kroužkovitosti slivoně (Prunus necrotic ringspot virus).....	19
8.2.1	Taxonomické zařazení.....	19
8.3	Popis patogenu.....	19
8.4	Přenos viru	20
8.5	Hostitelské rostliny a příznaky	20
8.6	Ochrana	21
9	Alternativní možnosti ochrany rostlin proti virům.....	21
9.1	Možnosti alternativní ochrany	21
9.2	Botanické pesticidy.....	21
9.2.1	Botanické pesticidy 1. generace.....	21
9.2.2	Botanické pesticidy 2. generace.....	22
9.2.3	Botanické pesticidy 3. generace.....	22
9.2.3.1	Mšice broskvoňová (<i>Myzus persicae</i> Sulzer).....	23
9.2.3.2	Mšice střemchová (<i>Rhopalosiphum padi</i> Linnaeus).....	24
9.2.3.3	Kyjatka zahradní (<i>Macrosiphum euphorbiae</i> Thomas)	25
9.2.3.4	Háďátko (<i>Xiphinema index</i> Thorne & Allen).....	25
9.2.3.5	Křísci (<i>Auchenorrhyncha</i>).....	26
9.2.3.6	Mšice kukuřičná (<i>Rhopalosiphum maidis</i> Fitch).....	26
9.2.4	Indukovaná rezistence (IR).....	26
9.2.4.1	Signální molekuly spouštějící IR.....	27
9.2.4.2	Indukovaná rezistence proti komplexu virů žluté lžičkovitosti rajčete (TYLCV).....	29
9.2.4.3	Antivirový účinek rostlinného extraktu z vratiče obecného na Y virus bramboru a na virovou mozaiku okurky	30
9.2.4.4	Antivirotická aktivita extraktů z <i>Thuja orientalis</i> proti viru mozaiky melounu vodního (WMV)	30
10	Závěr	31
11	Seznam použité literatury	32
11.1	Internetové zdroje	37

1 Úvod

V dnešní době se stále nadužívá syntetických pesticidů ve snaze zabránit ztrátám na výnosu a kvalitě u pěstovaných plodin. Častým používáním těchto látek dochází k negativním účinkům na necílové organismy, například na přirozené nepřátele hmyzích škůdců přenášejících virové choroby. V mnoha případech mají tyto syntetické přípravky negativní efekt i na lidské zdraví a životní prostředí. Proto se aktuální výzkum orientuje na nalezení nových alternativních přístupů k ochraně rostlin vůči virovým onemocněním a jejich přenašečům (Prakash et al. 2008).

Rostlinné viry, které způsobují například virové choroby BYDV a WDV, jsou nejčastějšími původci virových onemocnění obilnin (Ministerstvo zemědělství 2019). Rostliny napadané virovými chorobami mají nižší kvalitu a výnos. Přímá ochrana proti nim zatím neexistuje. V současnosti se využívá pouze nepřímých metod, například ochrany pomocí syntetických prostředků, sloužících k eliminaci škůdců (Agromanuál 2019).

Jednou z nabízejících se alternativ k syntetickým prostředkům je využití biologicky aktivních látek, například rostlinných sekundárních metabolitů. Některé z nich mohou mít herbicidní, aleopatické, dokonce i virucidní účinky. Stálé hledání nových metod zavádí výzkum k botanickým pesticidům 3. generace. To jsou rostlinné extrakty, které by na rozdíl od syntetických přípravků, svým účinkem dokázaly negativně působit na přenašeče ale ne na jejich přirozené nepřátele, neškodily by životnímu prostředí a dokázaly u rostliny podporovat vitalitu a zdravý růst. Dalším možným způsobem, jak lze zabránit škodám způsobených viry je vyvolání indukované rezistence u rostliny (Pavela 2011; Koul et al. 2014).

Tato práce se zaměřuje především na rostlinné extrakty, kterých by se dalo potenciálně využít v ochraně rostlin proti hmyzím škůdcům jakožto přenašečům virových onemocnění. Jednotlivé metody ochrany používané proti virovým chorobám polních plodin lze nalézt v následujících kapitolách u jednotlivých virů v kapitole ochrana. Rostlinné přípravky použitelné proti jednotlivým škůdcům způsobujících virové choroby lze nalézt v kapitole alternativní možnosti ochrany. Práce je strukturována tak, že nejprve jsou uvedeny vybrané rostlinné viry a jejich taxonomické zařazení, popis, hostitelské rostliny, příznaky a ochrana. V samostatné kapitole jsou pak shrnuty možnosti alternativní ochrany.

2 Cíl práce

Cílem práce bude charakterizovat vybrané rostlinné viry, popsat jejich epidemiologii a shrnout současné možnosti ochrany proti nim pomocí biologicky aktivních látek.

3 Viry

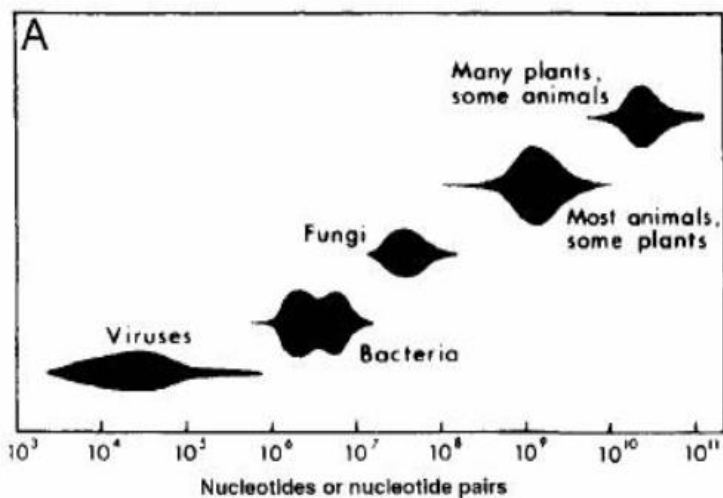
Virus je slovo latinské, jehož původním významem byl jed nebo také hnis či nechutný zápach. První zmínky o chorobách způsobených viry se datují k roku 752 n.l. nicméně nebylo použito slovo virus. V souvislosti s chorobou bylo toto slovo použito až v polovině 18. století. Samotný vědecký výzkum započal v druhé polovině 19. století díky Pasteurovi a Kochovi jejichž objevem byly specifické autonomní organismy, které způsobovaly infekční onemocnění u lidí a zvířat. Roku 1886 Mayer popsal nakaženou rostlinu tabáku, chorobu popsal jako Mosaikkrankheit (mozaiková choroba) a prokázal možnost přenosu z nakažené rostliny na zdravou za pomoci očkování, na jeho výzkum pak v roce 1892 navázal Iwanowski se svým pokusem, že míza z nakažené rostliny je infekční i po filtraci přes filtr na bakterie. Oba dva měli za to, že se jedná o toxické látky vylučované bakteriemi či o velmi malé bakterie. Až nizozemský botanik a mikrobiolog Beijerinck zopakoval pokusy svých předchůdců a potvrdil, že je možné činitele filtrovat, zároveň dokázal že došlo k multiplikaci činitele v nakažené tkáni. Díky tomuto pokusu zjistil že se činitel liší od patogenních hub a bakterií a nazval ho *contagium vivum fluidum* (nakažlivá živoucí tekutina). Tento objev se považuje za zrod virologie (Hull 2001; Khan et al. 2006).

3.1 Obecná charakteristika virů

Viry jsou jednou z nejrozšířenějších skupin organismů na planetě (Dimmock 2016). Jsou to obligátní buněční parazité závislí na aminokyselinách svého hostitele. Nedisponují vlastní látkovou výměnou ani vlastním replikačním aparátem. Nejsou tudíž schopni se množit bez svého hostitele. Jednou z jejich charakteristických vlastností je schopnost způsobovat choroby na hostiteli. Vyskytují se ale i takové druhy, které dokáží existovat společně se svým hostitelem a nepůsobit přitom žádné škody. Viry podléhají genetickým změnám a ty se vyskytují často, díky chybám, ke kterým dochází například při replikaci viru nebo při mutaci. Tyto chyby pak bývají neopraveny díky absenci reparačního aparátu (Hull 2013). Z toho lze vyvodit že viry mají schopnost se vyvíjet i bez vlastního replikačního aparátu.

3.2 Struktura virů

Jednotlivá částice viru se nazývá virion. Velikost nukleové kyseliny virů se pohybuje od 10^3 až 10^6 nukleotidů (nebo párů nukleotidů). Velikost virionu se pohybuje okolo 20-400 nm. Ten je tvořen nukleovou kyselinou a proteinovým obalem zvaným kapsid (CP). Kapsid je pak složen z podjednotek zvaných kapsomery. Celý tento komplex se označuje jako nukleokapsid. Z kapsidu mohou vyčnívat různé výběžky nebo hroty. Některé z virionů pak mívají navíc vnější obal, který je tvořen vrstvou lipidů nebo proteinů či karbohydrátů

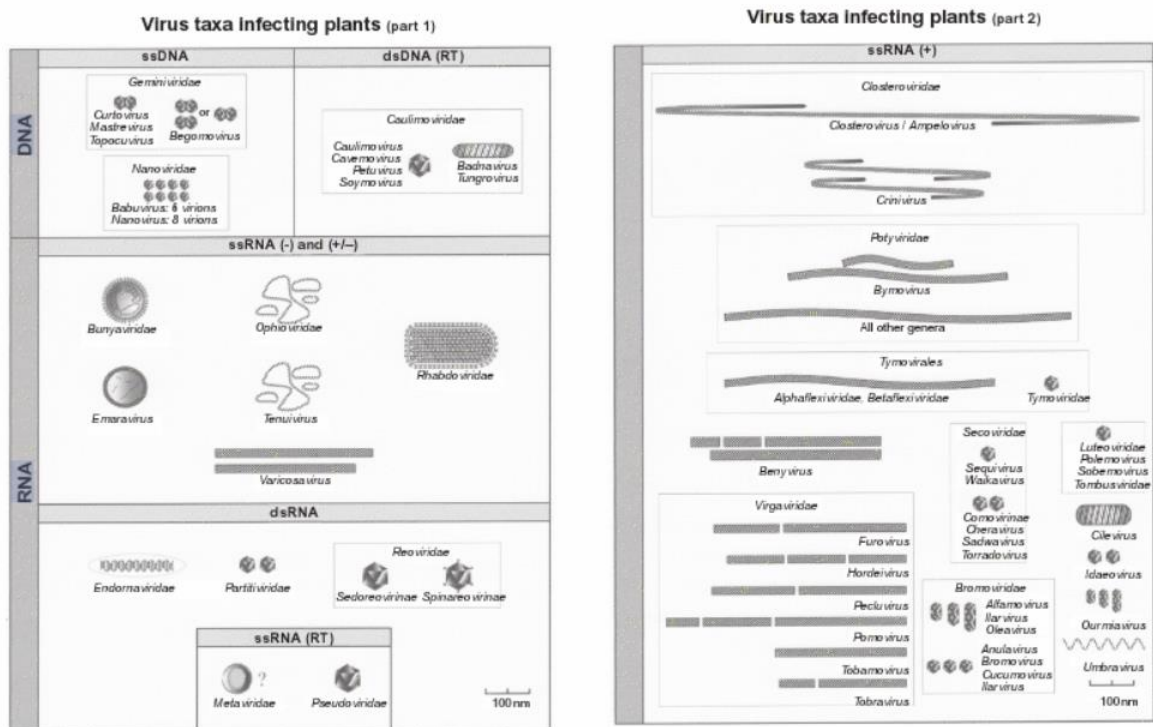


Obrázek 1 Velikosti nukleových kyselin (Hinegardner, 1976 in Matthews) https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcTLDqyO7Tkn8wf5cAPY_gI2hBR2acyD8otWvu6albuL5UuRU24c

a jiné jsou neobalené, do této skupiny patří většina fytovirů (Burchett & Burchett 2017). Skládání kapsomer pak určuje symetrii kapsidu. Ta může být helikální, izohedrální nebo komplexní. Tvary virionu jsou pak nejčastěji kulovité, tyčinkovité, vláknité, spirálovité, geometrické (Khan et al. 2006; Kazda et al. 2003). Vlákňité a tyčinkovité viry mají šroubovicovou symetrii u virů izometrických je symetrie ikosaedrální (Kůdela et al. 1989). Nukleová kyselina viru je buď DNA nebo RNA, nikdy ne obojí zároveň. Ta může být jednovláknová (ss) či dvouvláknová (ds). Nejčastěji však jednovláknová RNA (Scholthof et al. 2011). Jednovláknové RNA viry mohou být dále klasifikovány jako pozitivní +RNA nebo negativní -RNA (Burchett & Burchett 2017). Genom viru je obvykle malý, ale i ten se vyznačuje variabilní velikostí. Obvykle kóduje od 1 do 250 proteinů (Hull 2001).

3.3 Taxonomie virů

Viry můžeme řadit hierarchicky ve smyslu řád čeleď, rod, druh. Ke správnému zařazení jsou používána čtyři kritéria. První skupina zahrnuje vlastnost virionu (velikost, tvar) druhá typ genomu (vlastnosti proteinů), třetí organizaci genomu a replikaci (antigenní vlastnosti), čtvrtá biologické vlastnosti (patogenitu, přenos, a škálu hostitelů). Nejvíce užívanou charakteristikou je povaha a sekvence nukleové kyseliny, této charakteristiky využívá Baltimorská klasifikace, která viry klasifikuje podle struktury nukleové kyseliny. Základ biologické klasifikace tvoří druh, ten je používán hlavně v praxi a funguje taktéž jako označení pro jednotlivé kmeny a varianty. Momentálně se využívá schválené klasifikace ICTV (Internacional Committee on Taxonomy of Viruses) (Hull 2009). Pro zjednodušení a přehlednost jednotlivých virů je používáno akronymů. Například arabis mosaic virus má zkratku ArMV (Khan et al. 2006).



Obrázek 2 Současná klasifikace virů <https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/introduction/w/9th_report_intro/87/virus-taxa-infecting-plants>

3.4 Rostlinné viry

Viry, které jsou schopny infikovat rostliny nazýváme fytoviry. Jednotlivé viry mohou napadat jeden nebo více druhů rostlin řazených do různých taxonomických skupin (Hull 2001). Viry nedokáží pronikat do rostliny skrze kutikulu nebo buňčnou stěnu. Do rostlinných buněk tedy pronikají skrz poranění nebo poškození buněčné stěny. Fytoviry mají od 1 do 12 kódujících

proteinů. Viry také často obsahují enzymy, které hostitelská buňka není schopná poskytnout (Hull 2001). Z ekonomického hlediska má ochrana proti rostlinným virům značný význam, jelikož virové choroby mají velký dopad na pěstované plodiny a působí tak značné ekonomické ztráty. Nejhorší dopad mívají virové epidemie v zemích s omezeným počtem ploch k pěstování kulturních plodin. Avšak největší procento škod na pěstovaných plodinách napáchají hmyzí škůdci, u kterých globální procento škod dosahuje 10 % následované houbovými a bakteriálními patogeny s 9,9 %, zatímco u virů je to pouze 2,7 % (Oerke 2004). Ochrana rostlin je neustále vyvíjející se odvětví. Je zapotřebí zajistit rezistentní rostliny a eliminovat hmyzí vektory jakožto přenašeče a nacházet nové a bezpečnější způsoby ochrany rostlin. V ideálním případě by rostliny měly mít vysokou kvalitu a stabilní výnosnost (Singh et al. 2009; Walters et al. 2014). Celosvětově pak mezi ekonomicky a vědecky významné patří například virus tabákové mozaiky (TMV), Y virus bramboru (PVY), virus šárky švestky (PPV), virus mozaiky okurky (CMV), a také X virus bramboru (PVX) (Scholthof et al. 2011). V České republice patří mezi ty významné na obilovinách virová zakrslost pšenice (WDV) a žlutá zakrslost ječmene (BYDV) a na rostlinách chmelu patří mezi nejčastější virová mozaika chmele (HpMV), arabis mosaic virus na chmelu (ArMV) a latentní B-viróza chmele (PNRSV) v kombinaci s virovou kreslenou mozaikou chmele (ApMV) (Ministerstvo zemědělství 2019). V následující kapitole budou blíže charakterizovány viry, které v ČR působí největší škody na obilí a chmelu.

4 BYDV – Virus žluté zakrslosti ječmene (Barley yellow dwarf virus)

4.1 Taxonomické zařazení

IV. skupina (+ ssRNA)

Čeleď: *Luteoviridae*

Rod: *Luteovirus*

Druh: Virus žluté zakrslosti ječmene

(ICTV 2019)

4.2 Popis

BYDV, tj. žlutá zakrslost ječmene se řadí do čeledi *Luteoviridae* (D'Arcy & Domier, 2000). Genom čeledi se skládá z pozitivní ssRNA molekuly skládající se přibližně z 5,700 nt. Do této čeledi spadají rody *Luteovirus*, *Polerovirus*, *Enamovirus* (Khan et al. 2006). Viry způsobující virovou zakrslost ječmene řadíme do rodu *Luteovirus* a *Polerovirus* a další jsou nezařazené. Jednotlivé kmeny virů jsou rozděleny do rodů na základě organizace genomu a předpokládané podobnosti aminokyselinového řetězce. Názvy kmenů jsou odvozeny od hlavního, tj. nejvíce efektivního přenašeče. Do rodu *Luteovirus* spadají kmeny BYDV-MAV který je akronymem pro vir přenášený kyjatkou osenní (*Sibotia avenae* Fabricius) dříve *Macrosiphum avenae* Fabricius), dále BYDV-PAS, a BYDV-PAV který je vektorově nespecifický a je přenášen mšicí střemchovou (*Rhopalosiphum padi* Linnaeus) a kyjatkou osenní. Rod *Polerovirus* zahrnuje kmeny CYDV-RPS, RPV u těchto kmenů je přenos nejvíce efektivní přes mšici kukuřičnou (*Rhopalosiphum maidis* Fitch) a mšici střemchovou. Do nezařazené skupiny patří kmeny BYDV – GPV, RMV, SGV (Domier 2008; Ingwell et al. 2014).

BYDV a CYDV mají neobalené ikosahedrální částice s průměrem 25-28 nm. Jejich kapsida je složená z hlavního obalového proteinu (CP) o velikosti 22 kDa a menšího obalového proteinu o velikosti 65-72 kDa. Dle molekulární difrakce a molekulové hmotnosti se viriony skládají ze 180 proteinových podjednotek uspořádaných v T3 ikosahedře. Částice virů neobsahují lipidy nebo sacharidy. Jejich sedimentační koeficient v Sedbergově jednotce se pohybuje od 115-118 S. Vzestupná hustota v CsCl je přibližně 1,4 g/cm³. Samotné viriony jsou mírně stabilní a jsou necitlivé k ošetření chloroformem, neiontovým detergentem, a zmrazením. K narušení dochází až v důsledku dlouhodobého ošetřování vysokou koncentrací solí (Domier 2008). Na hostitelské rostlině najdeme tento vir pouze ve floému, a to v jeho jádře nebo vakuolách (Khan et al. 2006).

4.3 Přenos viru

Tento vir není nikdy přenášen semeny, pylem, nebo mechanicky. Je přenášen více než 20 druhy mšic, které napadají rostliny z čeledi *Poaceae* (Chrpová et al. 2017). K přenosu viru dojde takzvaným cirkulativním způsobem, tj. způsob u kterého se nejprve nakazí vektor virem skrze ústní ústrojí, vir se pak dostává hemolymfou do slinných žláz hmyzu a následně je slinami injektován do hostitelské rostliny (Agromanuál 2019). V těle hmyzu se vir množí a hmyz tak zůstává infekční po celou dobu svého života, tento způsob přenosu se nazývá perzistentní. Letová aktivita mšic je vyšší při teplotách nad 10°C. Úspěch přenosu se odvíjí od podmínek

prostředí, povrchu virionu, a množství vektorů. Jelikož je vir žluté zakrslosti přenášen skrze různé druhy mšic, je zde pro přehlednost Tabulka 1 (Chrpová et al. 2017). K primární infekci porostu dochází na podzim, v době, kdy přenašeči migrují na vzcházející ozimy. A k sekundární infekci dochází na jaře a v létě kdy jsou rostliny ve fázi sloupkování (Ministerstvo zemědělství 2019).

+ Hlavní přenašeč; 0 méně častý

	BYDV-PAV	BYDV-PAS	BYDV-MAV	BYDV-SGV	BYDV-GPV	BYDV-RMV	CYDV-RPV
Mšice střemchová <i>Rhopalosiphum padi</i>	+	+		0	+	0	+
Kyjatka osenní <i>Sitobion avenae</i>	+	+	+	0		0	0
Kyjatka travní <i>Metopolophium dirhodum</i>	0		+				
Mšice obilná <i>Schizaphis graminum</i>	0			+	+	0	0
Mšice kukuřičná <i>Rhopalosiphum maidis</i>				0		+	0

Tabulka 1 Přehled přenašečů jednotlivých kmenů Žluté zakrslosti ječmene

(Chrpová et al. 2017)

4.4 Hostitelské rostliny a příznaky

Virus BYDV napadá okolo 150 druhů rostlin z čeledi *Poaceae*, z kulturních druhů například ječmen, pšenici, oves a z nekulturních, jílek, sverep, lipnici. Na rostlinách nakažených virem lze pozorovat stagnaci růstu nadzemní i podzemní části rostliny, v důsledku ucpaní cévních svazků. Rostliny mají zredukovaný počet klasů, dochází k poruchám metání, jejich květy jsou sterilní a nevytváří semena. Dalším příznakem je změna barvy listů na žlutou až červenou barvu. Žloutnutí začíná od špiček a okrajů listů a vytváří skvrny které se objevují uprostřed listů až pokryjí celou čepel. Tyto symptomy jsou důsledkem nekrózy floémů a mohou způsobit až odumření rostliny (Chrpová et al. 2017). V důsledku fyziologického stresu způsobeného například mrazem, suchem, nebo nedostatkem živin lze na rostlině pozorovat stejné příznaky jako v případě napadení BYDV (Ministerstvo zemědělství 2019).



Obrázek 3 BYDV na ozimé pšenici
<https://www.canr.msu.edu/news/management_suggestions_for_barley_yellow_dwarf_virus_control>

4.5 Ochrana

V běžné produkci využíváme především komplexní ochranu. Tato ochrana kombinuje metody chemické společně s agrotechnickými opatřeními. Chemická ochrana je zaměřená na postřiky insekticidy, ty pak působí na přenašeče. Mezi agrotechnická opatření patří nejčastěji termíny výsevu, v případě BYDV i použití rezistentních odrůd. Výběr správné doby výsevu je klíčový. Nejvhodnější termín setí je co nejpozději (koncem září a začátkem října), jelikož dochází ke snížení výskytu přenašečů. Naopak u příliš brzkého výsevu mají přenašeči lepší podmínky, jejich aktivita je vysoká a zvyšuje se pravděpodobnost nakažení rostlin (Chrpová et al. 2017). Mezi nejvýznamnější zdroje infekce patří zanechané výdroly a nekulturní druhy z čeledi *Poaceae*, které slouží jako hostitelé pro přenašeče. K přerušení zeleného mostu je nutné před zasetím ozimů zničit populace škůdců prezimujících na výdroly, a to včasnou podmínkou a aplikací herbicidů (Ministerstvo zemědělství 2019). Svůj význam, pro ochranu před šířením viru, má dodržování izolačních vzdáleností v množitelských výsevech (Makeš et al. 1993).

Porost lze také chránit použitím odrůd, u kterých bylo prokázáno, že jsou do jisté míry odolné proti BYDV. Například u ječmene je rezistence řízena geny Ryd1, Ryd2 (Ydv2), Ryd3. Příkladem rezistentní odrůdy je Travira (Chrpová et al. 2017).

4.5.1 Chemická ochrana

Běžným způsobem ochrany proti žluté zakrslosti ječmene je použití chemických prostředků, působících na přenašeče. Tento způsob ochrany se doporučuje v oblastech s pravidelným výskytem přenašečů, a to postřikem přípravky, jejichž rezidua mají účinnost až do fáze 3 listů (Talich et al. 2013). Moření osiv se provádí hlavně pro ochranu rostlin, momentálně zakázané jsou přípravky ze skupiny neonikotinoidů s účinnou látkou clothianidin, imidacloprid, thiamethoxam. Tyto přípravky měly prokazatelně zlepšující účinky na náchylné odrůdy a také na částečně rezistentní odrůdy (Chrpová et al. 2017). K zamezení používání těchto látek došlo z důvodu škodlivých účinků na necílové organismy jako jsou včely a čmeláci (Agromanuál 2019). Postřiky během vegetace se provádí insekticidy. Mezi přípravky momentálně povolené a registrované v České republice patří látky ze skupiny pyrotenoidů, které se mohou kombinovat s olejovými adjuvanty, tak aby se zvýšila efektivita proti mšicím, které během let používání pyrotenoidů vytvořily odolné populace (Chrpová et al. 2017). Povoleným přípravkem na českém trhu je CYPERKILL MAX, jehož hlavní účinnou látkou je Cypermethrin ten je dostupný ve formě emulgovaného koncentrátu běžné dávkování je 0,05 l /ha; 200-600 l vody/ha. Ochranná lhůta je 28 dní a použít ho smí pouze profesionální uživatel. Další dostupné přípravky jsou například DECIS FORTE s účinnou látkou (deltamethrin) určený pro profesionální uživatele v dávce 62,5 ml/ha s ochrannou lhůtou 30 dní nebo emulgované granule s obchodním názvem LAMBO 50 - EC jehož účinná látka je (lambda cyhalothirin) používaná v dávce 50 g/l tento přípravek nemá omezení, mohou jej tedy použít jak profesionální, tak i běžní uživatelé (Ministerstvo zemědělství 2019).

5 WDV - Virová zakrslost pšenice (Wheat dwarf virus)

5.1 Taxonomické zařazení

II. skupina (ssDNA)

Čeď: *Geminiviridae*

Rod: *Mastrevirus*

Druh: Virová zakrslost pšenice

(ICTV 2019)

5.2 Popis patogenu

Přítomnost viru zakrslosti pšenice byla poprvé zaznamenána v Československu v roce 1961 (Vacke 1961). Virus řadíme do čeďi *Geminiviridaceae*, tato čeď se vyznačuje genomem ssDNA. Má dvě kapsidy s kvazi-ikosaedrální T1 symetrií. Vir je pak dále řazen do rodu *Mastrevirus*, jenž má velikost virionů 20x30 nm. Jeho sedimentační koeficient činí 75 S a stoupající hustota je 1,35 g/cm³ v CICs. Genom je složen z 2600–2800 nukleotidů. Organizace virového genomu se skládá ze 4 ORFs na pozitivním vlákně jsou oblasti dvě a to CP (capsid protein-kóduje obalový protein) a MP (movement protein – kódující protein pro pohyb) a negativním vlákně se nacházejí oblasti Rep a RepA kódující proteiny pro zahájení replikace (Schalk et al. 1989; Khan et al. 2006).

Jednotlivé kmeny jsou členěny dle hostitelské rostliny, například kmen pšeničný, kmen ječný, kmen ovesný. V Čechách jsou přítomny kmeny pšeničné (WDV-W) a ječné (WDV-B) rozdílnost spočívá v genetické odlišnosti ze které vyplývá velikost okruhu hostitelů a schopnost virulence (Ripl et al. 2008).

5.3 Přenos viru

Hlavním přenašečem viru je křísek polní (*Psammotettix alienus* Dahlbom) (Vacke 1961). K přenosu viru dochází perzistentně, cirkulativně skrze dospělé a nymfy, není však možný mechanicky, osivem ani z dospělců na potomstvo. Křísek nakažený předchozím sáním z napadené rostliny dokáže během 15 ti minutového sání na zdravé rostlině způsobit její nákazu. Vir přežívá v těle křísků po celý jejich život (Ministerstvo zemědělství 2019).

Optimální podmínky pro přenos viru jsou teploty vyšší než 10 °C, a to z důvodu větší aktivity kříska v porostu a jeho schopnost nakazit rostliny tím stoupá. V porostech jařin nejsou infekce tak významné, daleko větší dopad mají dospělci a nymfy křísků v porostech ozimů

z důvodu předchozí nákazy v době sklizně na výdrolech a travách (Talich et al. 2013). Díky absenci křídel u nymf dochází pouze k lokálnímu šíření, zatímco u dospělců je přenos jak lokální, tak dálkový (Ripl et al. 2008).

5.4 Hostitelské rostliny a příznaky

Rostliny napadané pšeničným kmenem jsou rostliny, které řadíme mezi lipnicovité například pšenice, ječmen, oves, žito, triticales. Nebo nekulturní druhy jako jsou sveřep, chundelka, oves hluchý, jílek, lipnice. Ječný kmen je méně virulentní a napadá ječmen, oves, zaječí ocásek (Ripl et al. 2008). Pro všechny napadené rostliny platí že je omezen růst, tím dochází k zakrslosti takovéto rostliny. Ostatní viditelné příznaky se poté liší dle druhu rostliny a nejsou pokaždé přítomny. Projevy u infikovaných rostlin začínají postupujícím žloutnutím starších listů od jejich špiček, odumřením terminálního listu a zbytku odnože. Pozorovat můžeme i různé deformace a prohýbání. Časně provedené výsevy vykazují po přezimování žloutnutí, napřimování a neprodužování odnoží, u později infikovaných rostlin není průběh tak výrazný (Ripl et al. 2008).

5.5 Ochrana

V ochraně proti virové zakrslosti hrají důležitou roli preventivní opatření vyplývající z agrotechnických zásad. Prvním je pěstování porostů, které dosahují optimální hustoty, a to z důvodu preference kříška, jemuž vyhovují prořídle porosty. Dalšími opatřeními jsou správné osevní postupy a optimální hnojení (Talich et al. 2013). Izolační vzdálenost porostů ozimů by měla být dostatečná a rozdělená do co nejmenších bloků (Ripl et al. 2008).

Důležitou roli hraje termín setí u porostů ozimů vysetých časně během suchého a teplého podzimu. Během tohoto období je pravděpodobnost přenosu viru kříšky zvýšena. Setí je tudíž doporučováno až pozdějším období kdy za chladného počasí dochází ke snižování letové aktivity kříšků. Nevýhodou této metody může být snížení výnosu, a to u ozimého ječmene, pšenice a triticales (Talich et al. 2013).

Zdrojem infekce u ozimých obilnin bývá nejčastěji nakažený výdrol, kde dochází k infikování kříšků. Z hlediska ochrany je tedy důležité přerušení tohoto zeleného mostu tudíž včasná likvidace výdrolu (Ripl et al. 2008). Pokud je porost ozimů napadený silně je doporučováno jej zaorat (Talich et al. 2013).

5.5.1 Monitoring

Monitoring kříška polního v porostu lze provádět například, umístěním horizontálních lepoých pásek či smykáním prováděným optimálně za bezvětřného a slunného počasí při teplotě nad 18 °C běžně provádíme 100 smyků. Z výsledků pak lze vyvodit postup ochrany v následujícím roce (Talich et al. 2013).

5.5.2 Odolné odrůdy

Odrůdy, které by byly zcela rezistentní prozatím nejsou. Míra poškození porostů se odvíjí od atraktivity jednotlivých odrůd pro křísky a zároveň od odolnosti odrůd k virové zakrslosti. Na trhu dostupné jsou například Banquet, Svitava. (Ripl et al. 2008)

5.5.3 Chemická ochrana

Chemická ochrana nebojuje přímo proti viru ale proti jeho přenašeči. Použití ochrany závisí na výskytu kříška v předchozím roce, tyto údaje lze zjistit jeho monitoringem. Využit lze i predikci výskytu virové zakrslosti pšenice, tj. software který podle zadaných údajů doporučí ochranu. Dříve v místech s častým výskytem WDV se doporučovalo provádět insekticidní moření osiva, dnes jsou látky ze skupiny neonikotinoidů zakázané. Postřiky během vegetace provádíme při středním a vysokém výskytu kříška. Na podzim podle intenzity výskytu WDV v roce předchozím a také v závislosti na počasí. Provádíme je ve fázi 1-3 listů, při prokázání pozitivních jedinců. Postřik výdrolů insekticidy se doporučuje při středním a vysokém výskytu tj. 10-20 nebo více jak 20 jedinců na 100 smyků (Ripl et al. 2008; Talich et al. 2013). V jarním období po provedení smykání, kde při výskytu více jak 5 nymf na 100 smyků současně s příznaky viru nad 10 % v porostu provedeme chemické ošetření (Talich et al. 2013).

Postřiky porostů provádíme insekticidy na bázi pyrotenoidů nebo v kombinaci pyrotenoidů a organofosfátů. K registrovaným přípravkům patří FURY 10 EW, jehož účinnou složkou je (zeta-cypermethrin) dostupný ve formě emulze oleje na vodě, aplikační dávka je 0,1 l/ha tento přípravek je určen pouze pro profesionální uživatele. Dalším užívaným přípravkem je NUTRELLED kombinující pyrotenoid a organofosfát v poměru látek cypermethrin 50 g/l a chlorpyrifos 500 g/l, který je dostupný ve formě emulgovaného koncentrátu a je určený jak pro profesionální, tak pro běžné uživatele. Aplikační dávka činí 0,6 l/ha. Dále například CYPERKILL 25 EC obsahující látku cypermethrin k dostání jako emulgovaný koncentrát s aplikační dávkou 0,1 l/ha a ochranou lhůtou 42 dní, použitelný i pro neprofesionální uživatele (Ministerstvo zemědělství 2019).

6 HpMV – Virová mozaika chmele (Hop mosaic virus)

6.1 Taxonomické zařazení

IV. skupina (+ ssRNA)

Řád: *Tymovirales*

Čeleď: *Betaflexiviridae*

Podskupina: *Quinviridae*

Rod: *Carlavirus*

Druh: Virová mozaika chmele

(ICTV 2019)

6.2 Popis patogenu

Virus řadíme do rodu *Carlavirus*, jehož název vznikl z anglického (carnation latent virus) CLV. Virion, je ohebný a vláknitý s helikální symetrií. Jeho délka se pohybuje okolo 610 až 700 nm s průměrem okolo 12-15 nm a výškou šroubovice okolo 3.4 nm. Sedimentační koeficient virů se pohybuje od 147 do 176 S se vzestupnou hustotou 1.31-1.33g/cm³ v CsCl. CP a Mr dosahující hodnot 31,000 – 36,000. Genom se skládá z pozitivní ssRNA molekuly (7,4-7,7 kb) (Francki et al. 1991; Hull 2001). Carlaviry se skládají ze šesti ORFs (1-6). ORF 1 kóduje polypeptid zodpovědný za virovou replikaci. ORF 2, 3, 4 společně formují blok genů které jsou zapojeny v pohybu viru z buňky do buňky. ORF 5 kóduje obalový protein a zároveň se překrývá s ORF 6 protein bohatý na cystein, který má neznámou funkci (Hull 2001). Pro mnoho carlavirů jsou charakteristické inkluze, které mohou být pozorovány světelným mikroskopem. Inkluze parakrystalické, které se objevují v cytoplazmě rostlin a skládají se z masy běžně uspořádaných virových částic. Velká většina z carlavirů je dobrými imunogeny (Khan et al. 2006). Jednotlivé druhy pak napadají úzký okruh hostitelů (Francki et al. 1991). Vir není stabilní v surové míze z infikovaných rostlin a může se stát neaktivním za méně než hodinu při 20 °C (Khan et al. 2006).

6.3 Přenos viru

K přenosu viru mozaiky chmele nedochází skrze semeno, může k němu dojít při vegetativním množení mechanicky nebo skrze nakažený sadbový materiál, tento způsob nakažení má významný podíl na schopnost infekce se šířit (Svoboda 2009). Přenos viru probíhá neperzistentně, doba přenosu viru je omezena na dobu ihned po nasátí z nakažené rostliny.

K přenosu dojde skrze stiletý mšice chmelové (*Phorodon humuli* Schrank), mšice broskvoňové (*Myzus persicae* Sulzer) nebo kyjatky zahradní (*Macrosiphum euphorbiae* Thomas) (Svoboda 2009). Mšice chmelová je nejvýznamnější na severní polokouli. Způsobuje ztráty ekonomické a ztráty na kvalitě (Undas et al. 2018). Dalším předpokládaným přenašečem je mšice skleníková. Mšice broskvoňová a chmelová mají hostitele, kterými jsou především *Prunus* ssp. a *Humulus* sp. (Svoboda 2009).

Vajíčka těchto mšic přezimují nejčastěji na švestkách. Z nich se na jaře líhnou bezkřídlé samice (fundatrix), které porodí cca 100 larev za život, z nichž se vylíhnou další bezkřídlé samice (fundatrigenie) a její potomstvo už dospívá v okřídlené mšice (migrantes alatae), tyto pak začátkem května v závislosti na teplotách odlétají, nebo jsou unášeny větrem na chmel a tam nakladou larvy z nichž dospějí bezkřídlé samičky (virginogenie), které mají na chmelu několik generací (5-8). Rozletují se po celé chmelnici a na konci srpna okřídlené samičky (gynopary) přeletí zpět na peckoviny, ty rodí nymfy, které dospějí ve vejcorodé samičky (oviparnisamice) a spáří se s okřídlenými samečkami. Tyto samičky nakladou vajíčka koncem září až polovinou listopadu. Tato vajíčka jsou velice odolná a dokáže jich přezimovat až 90 % (Vostřel et al. 2008; Kazda et al. 2010).

6.4 Hostitelské rostliny a příznaky

Vir HpMV se vyskytuje na rostlinách chmele v Evropě, Severní Americe a Tasmánii.

Z nekulturních rostlin vir napadá kopřivu dvoudomou, ptačinec prostřední, merlík bílý, jitrocel kopinatý, a truskavec ptačí. Je však nepravděpodobné že by tyto druhy hrály výraznější roli pro přenos na rostliny chmele (Pethybridge et al. 2008). Moderní kultivary chmele jsou obecně bezpříznakové.



Obrázek 4 Příznaky HpMV na listech chmele
<https://www.canr.msu.edu/news/virus_visible_in_michigan_hopyards>

U citlivých odrůd chmele lze již v prvních fázích vegetace zaznamenat příznaky napadení.

V období na konci června a začátkem července jsou příznaky znatelnější. Dochází k redukci alfa-hořkých kyselin a olejů. Viditelnými příznaky na citlivých odrůdách chmele je chlorotické žilkování a ohýbání okrajů listů, rostliny jsou zakrslé a padají z vodiče. Poškození je mnohdy závažné a může docházet k předčasnému odumírání rostlin (Thresh 1983; Probasco 1996; Svoboda 2009).

6.5 Ochrana

Hlavní využití má pěstování tolerantních odrůd chmele, u kterých vir nevyvolává příznaky. U nově vysazených rostlin chmele je sadbový materiál tolerantních odrůd nejdříve ozdraven, a tudíž dlouho nedochází k šíření nákazy porostu (Svoboda 2009). Mšice svým sáním oslabují rostliny a škodí jako vektory virových onemocnění chmele. Dalším způsobem je využití chemické ochrany za použití insekticidů. Pro zjištění optimální doby aplikace těchto insekticidů využíváme metody SET (suma efektivních teplot). Tato suma stanoví počet generací na zimních hostitelských rostlinách (Vostřel 2008; Kazda et al. 2010).

6.5.1 Chemická ochrana

Registrovaným přípravkem na českém trhu je přípravek Teppeki, jehož hlavní účinnou látkou je folnicamid, který je dostupný ve formě dispergovaných granulí. Doporučené dávkování je 0,18 kg/ha. Ochranná lhůta je 21 dní a smí ho použít pouze profesionální uživatel. Dalšími dostupnými přípravky jsou Phelum s účinnou látkou pymetrozin, určený jak pro profesionální, tak pro běžné uživatele v dávce 0,8 kg/ha s ochrannou lhůtou 14 dní nebo Sivanto prime dostupný ve formě rozpustného koncentrátu s účinnou látkou flupyridifuron používaný v dávce 0,75 l/ha. Ochrana insekticidy je omezena povinností dodržováním MRL (maximum residue level) maximálního množství reziduí (Ministerstvo zemědělství 2019).

7 ArMV - Arabis mosaic virus na chmelu (*Arabis mosaic virus*)

7.1 Taxonomické zařazení

IV. skupina (+ ssRNA)

Řád: *Picornavirales*

Čeleď: *Secoviridae*

Podskupina: *Comovirinae*

Rod: *Nepovirus*

Druh: *Arabis mosaic virus*

(ICTV 2019)

7.2 Popis patogenu

Název nepovirů je odvozen od způsobu přenosu přes hlístice (nematody) nakažené viry s polyhedrálními částicemi (Khan et al. 2006). Nepovirus je tvořen třemi typy izometrických částic o velikosti 28 nm, které se dají rozlišit podle sedimentačních konstant. Typ T je prázdná kapsida, typ M a B mají různý obsah RNA (Svoboda 2009). Jeho genom je dvoudílný, skládá se z dvou vláken + (-) ssRNA. Větší RNA (1) má okolo 7,1 - 8,4 kb podle druhu viru. Zatímco RNA (2) je mnohem více variabilní a velikost nukleotidů se pohybuje od 3,4 - 7,2 kb. Nepoviry můžeme rozdělit do tří skupin podle velikosti a enkapsidace RNA2 (Hull 2001). Jednotlivé podskupiny jsou označovány jako a, b, c. Podskupina „a“ zahrnuje viry s RNA2 jejichž velikost je od 4,3 - 5,0 kb, která je obalena v obou komponentech B i M. Podskupina „b“ s velikostí RNA2 od 4,6 - 5,3 kb je obalena v komponentu M. Do podskupiny „c“ patří viry obsahující RNA2 o velikosti 6,3 - 7,3 kb která je enkapsidována v M komponentu který je jen těžko oddělitelný od B komponentu (Khan et al. 2006).

Samotná RNA2 kóduje tři funkční proteiny jmenovitě protein (P2A) který je nutný pro replikaci RNA2. Dále proteiny MP (movement protein) a CP (coat protein) u kterých se předpokládá že protein MP je zodpovědný za transport z buňky do buňky a protein CP zodpovědný za enkapsidaci a rozšíření viru (Khan et al. 2006). Samotný virus ArMV zahrnuje kmen ArMV-H napadající chmel (Svoboda 2009).

7.3 Přenos viru

Vir infikuje buněčný parenchym a floem a může být pozorován jako malý agregát v cytoplazmě nebo ve vakuolách (Agrios 2005). Vyskytuje se zejména v Evropě, dalšími oblastmi výskytu jsou Kanada a Nový Zéland (Svoboda 2009).

Virus je snadno přenosný šťávou. Nepovivky jsou přenášeny mechanicky, k nákaze dochází například při poranění. Viriony jsou stabilní v surové míze z infikovaných rostlin, ve které jsou schopny uchovávat svoji infekčnost po dobu jedno, až dvou týdnů při teplotě 20°C. Inaktivace infekčnosti šťávy je zapotřebí teplot mezi 60–65 °C po dobu 10 minut. V přírodě dochází k přenosu skrze semena nebo pyl. K přenosu z rostliny na rostlinu dochází pomocí hlístic z čeledi *Longidorus*, *Paralongidorus*, *Xiphinema* (Agrios 2005). Z volně žijících háďátek se jedná především o druhy *Xiphinema diversicaudatum* (Micoletzky) zde přenáší virus larvy a dospělci kteří nepředávají virus do svého potomstva a nevydrží ani po svlékání, a dále *Xiphinema coxi* Tarjan (Svoboda 2009). U háďátek dochází k nakažení po několika hodinovém sání na infikované rostlině. Samotný virus je v přenašeči aktivní i po několik měsíců. (Agrios 2005; Svoboda 2009). Mnoho nepovirů je přenášeno skrze semena nakažených rostlin (Agrios 2005). Dalším způsobem přenosu je přenos mechanický, virus lze totiž snadno přenášet rostlinou šťávou. Nebo za pomoci parazitické rostliny kokotice (Svoboda 2009).

7.4 Hostitelské rostliny a příznaky

Vir ArMv napadá jak plané druhy rostlin, tak i kulturní druhy. Napadá třešně, maliník, jahodník, celer vinnou révu, chmel, okurky a chmel. Chmelový kmen ArMv-H napadá pouze chmel a několik bylinných indikátorů. Chmelový indikátor obsahuje jeden nebo více S-nukleových kyselin. U rostlin vykazujících z počátku holost výhonů, bez dalších příznaků choroby, se předpokládá že neobsahují S-nukleové kyseliny. U napadených rostlin jsou v počátečních stádiích hlavním příznakem řídké výhony. Poté se zpomalí růst a rostliny jsou zakrnělé, révové listy a pazochy jsou lodičkovitě stočeny a žilky bývají prosvětlené. Vegetační vrcholy rostlin se odklánějí od vodiče poté padají a dochází k jejich odumírání. Rostliny napadené skrze semeno často nevykazují žádné příznaky (Svoboda 2009).

7.5 Ochrana

Ochrana rostlin napadených nepoviry spočívá v pěstování nenakažených semen a sadbového materiálu. Také při založení nového porostu, je třeba dbát na to, aby pole bylo zbaveno vektoru a viru. Dalším způsobem ochrany je výsadba tolerantních nebo rezistentních odrůd (Agrios 2005).

8 Virová kreslená mozaika chmele, latentní B-viróza chmele

8.1 ApMV - Virus mozaiky jabloně (Apple mosaic virus)

8.1.1 Taxonomické zařazení

IV. skupina

Čeď: *Bromoviridae*

Rod: *Ilarvirus*

Druh: Virus mozaiky jabloně

(ICTV 2019)

8.2 PNRSV - Virus nekrotické kroužkovitosti slivoně (Prunus necrotic ringspot virus)

8.2.1 Taxonomické zařazení

IV. skupina

Čeď: *Bromoviridae*

Rod: *Ilarvirus*

Druh: Nekrotická kroužkovitost slivoně

(ICTV 2019)

8.3 Popis patogenu

Virus ApMV a PNRSV řadíme do čeďi *Bromoviridae* tyto viry jsou dále řazeny do rodu ilarvirů. Název ilarvirů je odvozen od samotného popisu (isometric labile ringspot viruses) (Agrios 2005). Viriony jsou téměř izometrické a jejich velikost je 26-30 nm. (Svoboda 2009). Částice stejného viru se liší ve svém tvaru některé mohou být izometrické jiné zase sférické až baciloformní. Průměr částic je 20-32 nm. Obsahují 4 molekuly jednopramenné RNA. Molekuly RNA_{1,2,3,4} jsou uzavřeny ve třech rozdílných částicích. Molekula RNA₄ je monocistronická pro obalový protein. RNA_{1,2,3} jsou infekční pouze v přítomnosti obalového proteinu nebo RNA₄. Sedimentační koeficient tří typů virionů je přibližně 113,98, a 90 S a jejich hodnoty v Mr jsou 7,54, 5,92 a 4,72 (10⁻⁶) velikost se pohybuje okolo 35, 30 a 27 nm v průměru. Všechny druhy částic mají vzestupnou hustotu 1,35 g/cm³ v CICs (Khan et al. 2006). Ilarviry se vyskytují všude tam kde se vyskytují jeho hostitelé, napadají primárně dřevnaté rostliny. Vir ApMV se skládá z izometrických částic o průměru 25 nm. Chmelové kmeny ApMV jsou dva,

a to kmen A a kmen C. Vir obsažený ve šťávě je nestabilní a k jeho termální inaktivaci dochází po deseti minutách v 54°. Samotný virus ApMV je sérologicky příbuzný s virem PNRSV (Svoboda 2009).

8.4 Přenos viru

K přenosu viru ApMV dochází mechanickou cestou hlavně vegetativním množením nakažených rostlin nebo jejich roubováním. Známe je také přenos viru způsobený vzájemným kontaktem výhonů rostlin chmele (Pethybridge et al. 2002). Účinný může být přenos uskutečněný skrze kontakt kořenů rostlin v půdě (Pethybridge et al. 2000). Vektor, který by přenášel vir není znám. Nedochozí k přenosu viru skrze semeno. U rostlin chmele je šíření pomalé. Přenos z čeledi *Rosaceae* na jiné druhy je obtížný (Svoboda 2009).

K přenosu viru PNRSV dochází skrze pyl. Má se za to, že vir je pravděpodobně přenášen kombinací mechanického poranění od trásněnek společně s pylem od infekčních rostlin (George & Davidson 1963).

8.5 Hostitelské rostliny a příznaky

ApMV se vyskytuje všude tam kde se vyskytují jeho hostitelé. Většina z rostlin, která je virem napadána patří do čeledi růžovitých. Mezi hostitelské rostliny patří broskvoň, mandloň, švestka a chmel. Příznaky objevující se na nakažených rostlinách se projevují na listech, jako chlorotické mozaiky nebo jako čárkovitá či kroužkovitá kresba. Bez viditelných příznaků jsou rostliny napadené chmelovými kmeny, u kterých se příznaky projeví až v důsledku výkyvů teplot, a to na listech. Zároveň díky působení viru dochází k snížení obsahu hořkých kyselin až o 20 % (Svoboda 2009).



Obrázek 5 Viditelné příznaky ApMV na listech chmele
<https://www.canr.msu.edu/news/virus_visible_in_michigan_hopyards>

PNRSV virus napadá rostliny patřící do čeledi *Rosaceae* a skoro všechny rostliny z rodu *Prunus* sp. Výskyt tohoto viru je hlavně v teplejších oblastech. První rok jsou příznaky na napadených rostlinách výrazné. Šokové příznaky se projevují jako chlorotické nebo nekrotické kroužky, čárky a tečky na listech. U nekrotických skvrn na listech dochází k vypadávání středů. U mladých rostlin je možné odumření (Svoboda 2009).

8.6 Ochrana

Jako prevence šíření ApMV se doporučuje pěstování bezvirového materiálu. Důležité je tedy kontrolovat vysazované rostliny, jestli u nich není vir přítomen. Jelikož u velké části rostlin je průběh choroby latentní nebo se vyskytuje v malém množství je zapotřebí použít velice citlivých detekčních metod (López et.al. 2003). Jedna z technik používaných pro odstranění viru z rostlin je metoda termoterapie (požívá se teplot od 35 °C do 40 °C po několik dní nebo jen po několik málo minut), další metodou používanou k ozdravení rostlinného materiálu je terapie tkáňovou kulturou zde se využívá meristémových kultur k získání bezvirového materiálu. Poslední možností je indukovaná rezistence u rostlin, která se u rostliny vyvine v důsledku předchozího nakažení virem (Grimová et al. 2016).

9 Alternativní možnosti ochrany rostlin proti virům

9.1 Možnosti alternativní ochrany

Jedna z alternativních možností ochrany je použití botanických pesticidů k eliminaci hmyzích přenašečů. Další možností je ochrana biologická, to je zavedení přirozených nepřátel hmyzích škůdců do porostů. Tímto způsobem lze regulovat populace škůdců v případech kdy dojde k jejich přemnožení, ať už v důsledku zavlečení škůdce do oblastí, kde se nenachází jejich přirozený nepřítel či v důsledku změny podmínek které hrají ve prospěch škůdce, například při pěstování monokultur (Dent 2000). Pro zvýšení obranyschopnosti rostliny je také možné využít indukované rezistence, která může být vyvolána různými podmínkami (Walters et al. 2013).

Tato práce se věnuje převážně možnostem využití botanických pesticidů v boji proti přenašečům vybraných virových onemocnění jako je virová zakrslost pšenice a její přenašeč křísek polní.

9.2 Botanické pesticidy

Jsou sekundární metabolity rostlin, které rostliny syntetizují pro svoji obranu. Tyto látky zvyšují obranyschopnost rostlin vůči chorobám a mají pesticidní účinky proti rostlinným škůdcům. První zmínky o používání botanických pesticidů jsou již z doby před třemi tisíci lety pocházející z Číny, Egypta a Řecka. Botanické pesticidy můžeme rozdělit do třech skupin (Pavela 2011).

9.2.1 Botanické pesticidy 1. generace

Tato skupina zahrnuje nejstarší a nejúčinnější skupinu botanických insekticidů (neselektivní insekticidy). Jedná se o extrakty z rostlin, které jsou pro hmyz vysoce toxické.

Kvůli neselektivní povaze těchto látek je použití směřováno spíše na pokojové rostliny, zeleninu ve skleníku a místa kde nemůže dojít k nechtěnému zasažení necílových organismů. K nejčastěji využívaným extraktům patří pyrethrum, nikotin, rotenon, ryanodine, quassin, veratrin, a rostlinné oleje a mýdla (Pavela 2011).

9.2.2 Botanické pesticidy 2. generace

Botanické pesticidy druhé generace zahrnují látky působící jako insekticidy, akaricidy, a fungicidy. Jsou selektivní, a jsou environmentálně a zdravotně bezpečné. Do této skupiny spadají přípravky, které vznikaly zhruba od poloviny 20. století. Důraz se kladl na to, aby tyto látky nenapadaly přirozené nepřátele a parazity hmyzích škůdců. Účinky botanických pesticidů 2. generace jsou mnohdy nejen kurativní ale mají i preventivní charakter. Selektivita je způsobena extrakty, jež obsahují látky inhibičního charakteru. Naprostá většina přípravků je vyráběna z léčivých rostlin. Většinou obsahují směs biologicky aktivních látek, mezi kterými panují synergické vztahy mají tedy schopnost zabraňovat vzniku rezistentních populací škůdců i patogenů. Tato skupina zahrnuje látky působící jako herbicidy, ty však nejsou selektivní. Doporučený způsob aplikace je preventivní, ale dá se použít i v době výskytu choroby a škůdce v porostu (Pavela 2011).

Mezi využívané rostliny obsahující biologicky aktivní látky patří zederach indický (*Azadirachta indica* Juss.), kaleda lysá (*Pogamia pinnata* L. Pierre), pantoflíček celolistý (*Calceolaria andina* L.), křídlatky (*Reynoutria* sp.), jerlín žlutavý (*Sophora flavescens* Ait.), mýdelník (*Sapindus* sp.), a skupina rostlin obsahující aromatické látky jako geraniol, linalol, terpineol, limonen, cinnamaldehyd, thymol. Ze samotných aromatických rostlin jsou nejčastěji komerčně využívané česnek kuchyňský (*Allium sativum* L.) a voňatka (*Cymbopogon* sp.) (Pavela 2011).

9.2.3 Botanické pesticidy 3. generace

Třetí generace botanických pesticidů je skupina rostlinných výtažků a biologicky aktivních látek. Tato skupina vznikla v posledních několika desetiletích a vyznačuje se svým nepřímým pesticidním působením, díky jejich působení nedochází k přímé mortalitě. Jedná se tedy o látky pomocné. Přípravky z rostlinných extraktů působí preventivně, mohou indukovat částečnou rezistenci, zvyšují vitalitu rostliny a podporují její zdravý růst. Jejich další vlastností je inhibice škůdců a růstu patogenů. U škůdců zamezují kladení vajíček nebo je odpuzují. Třetí generaci botanických pesticidů dělíme dle jejich účinnosti na přípravky ovlivňující vitalitu a na přípravky elicitující syntézu látek obraného charakteru. První skupina přípravků obsahuje látky

jako jsou polyfenoly, jednoduché fenoly, vyšší terpeny z nich pak monoterpeny, diterpeny nebo mikro a makro prvky. Tyto látky povzbuzují syntézu růstových hormonů a tím přispívají ke zdravému vývoji rostliny (Pavela 2011).

Do druhé skupiny spadají přípravky obsahující látky podobné rostlinným hormonům a látky povzbuzující syntézu vlastních hormonů, rostliny jsou pak vitálnější a zdravější a dokážou lépe odolávat chorobám. Patří sem extrakty z kopřivy žahavky (*Urtica urens* L.), kopřivy dvoudomé (*Urtica dioica* L.) a z kůry vrby bílé (*Salix alba* L.) (kyselina salicylová a salicin), kyselina jasmonová nebo jiné polyfenolické látky, extrakty či esenciální oleje z aromatických rostlin (Pavela 2011).

9.2.3.1 Mšice broskvoňová (*Myzus persicae* Sulzer)

Pokusy jejichž cílem bylo odhadnout účinky přípravků na bázi oleje z kaledy lysé (*Pongamia pinnata* L.) na životní cyklus mšice broskvoňové, prováděla Stepanycheva et. al (2014). V pokusu byly použity oleje se semen kaledy lysé a oleje z kůry skořicovníku pravého (*Cinnamomum verum* Thub.). Dále bylo využito rostlinných extraktů ze semen mýdelníku pravého (*Sapindus saponaria* L.) a z kvetoucích rostlin tymiánu obecného (*Thymus vulgaris* L.) společně s metanolem v poměru 1:10 (rostlina:metanol). Použit byl také thymol (99,9%) a jeden komerční insekticid NeemAzal-U (azadirachtin A 10g/kg). Jako jednotlivé varianty sloužily různé kombinace těchto látek. Pro odhad insekticidní aktivity jednotlivých kombinací sloužily biotesty (Stepanycheva et al. 2014).

Všechny kombinace v maximální koncentraci 3% kromě jedné varianty REP5 (Pongam + *Sapindus saponaria*) vykazovaly alespoň 90% mortalitu samic mšice broskvoňové. Další varianty RE (Pongam), REP (Pongam + thymol), REP3 (Pongam + *Thymus vulgaris*), NA (NeemAzal-U). vykazovaly vysokou úmrtnost, pouze malé množství larev se vylíhlo a ihned zemřelo. U poslední varianty REP4 (Pongam + *Cinnamomum verum*) plodnost zůstala stejná, avšak jedinci nebyli životaschopní. Postupným snížením koncentrace na 0,75 % se ukázalo, že varianta RE vykazovala 60% úmrtnost samic a inhibici nymf na 80 %. Varianta s komerčním insekticidem a varianta s REP4 vykazovaly nižší imagocidní aktivitu. Při studiu vlivu přípravků na úmrtnost larev všechny vzorky projevíly vysokou apicidní aktivitu. V těle hmyzu docházelo k hromadění toxinů, přípravky se pak lišily v nástupu úmrtnosti. Účinnost v čase stoupala. Olej z *Pongamia* nemá vliv na hmyzí opylovače, tudíž by mohl být zařazen do systému integrované ochrany plodin (Stepanycheva et al. 2014).

Pokusy, které měly za cíl prokázat repelentní účinek 13 esenciálních olejů vůči mšici broskvoňové prováděl Mathosi Hori (1998). Použit byl olej z oregana, patchuli, rozmarýnu, tymiánu, levandule, majoránky, šalvěže, bazalky, poleje, yzopu, máty, máty klasnaté, máty peprné. Repelentní účinek oleje z rozmarýnu byl zkoumán ve skleníku kde si mšice mohla vybrat z rostlin tabáku, které byly umístěny poblíž nádob obsahujících vypařující se olej nebo vodu. Z výsledků vyplívá, že olej z rozmarýnu tymiánu, levandule, máty peprné a máty klasnaté vykazovaly repelentní aktivitu v dávce 10 μ l. Dále se v pokusu měřila repelentní aktivita 13 komponentů z oleje rozmarýnu. Komponenty, které vykazovaly repelentní aktivitu byly linalool, d,l-camphor, alfa-terpineol. Rozmarýnový olej a tymiánový působily silně repelentně na mšici broskvoňovou. U rozmarýnového oleje byl pak prokázán účinek i na další druhy mšic jako například na kyjatku zahradní, mšici bavlníkovou (*Aphis gossypii* Glover) (Hori 1998).

Efektivitu esenciálního oleje z máty ve čtyřech různých rozpouštědlech (acetonu, etanolu, n-hexane, chloroformu) na schopnost hubit mšici broskvoňovou v laboratorních podmínkách prováděl Al-Antary et al. (2017). Biotesty byly prováděny tak aby se našla letální koncentrace všech aplikovaných přípravků. Výsledky ukázaly efektivitu u variant (mátový olej + chloroform), (mátový olej + metanol) proti počátečním nymfálním instarům mšice broskvoňové. Nejlepší byly varianty mátový olej + etanol v letální koncentraci 0,004 (v/v) a mátový olej + chloroform v letální koncentraci 0,090 (v/v). Účinnost přípravků se měnila v čase. Celková úmrtnost mšic byla po aplikaci mátového oleje 85.12 až 88 %. Mátový olej je bezpečný pro použití v životním prostředí, a je tedy velmi slibným insekticidem, který by bylo možné potenciálně využít v ochraně proti mšici broskvoňové (Al-Antary et al. 2017).

9.2.3.2 Mšice střemchová (*Rhopalosiphum padi* Linnaeus)

Účinky vodného extraktu z různých částí rostliny kolokvinty obecné (*Citrullus colocynthis* L. Schrad.) (kořenu, stonku, listu, plodu) v pěti různých koncentracích na *Rhopalosiphum padi* zkoumal Asiry (2015). Listy ječmene byly ošetřeny různými koncentracemi z kolokvinty obecné. Výsledky ukázaly, že různé části rostliny dosahovaly různých výsledků. Nejvyšší úmrtnosti mšice se dosáhlo po aplikaci extraktu ze stonku. Extrakt v různých koncentracích vykazoval různé procento mortality, v koncentracích 100 000 ppm byla 75%, v koncentraci 1000 ppm byla 71,25%, u 10 ppm to bylo 60 % a u 0.1 a 0,001 ppm byla mortalita 43,75% a 40%. Stonek byl efektivnější, než kořen a to 0,83 %, o 0,47 % než list, a o 0,36 % více než plod. Lze předpokládat, že tak docházelo v důsledku přítomnosti vyšší koncentrace toxinů ve stonku jako například terpenoidů, kukurbitanů, glykosidů, flavonoidů a dalších sloučenin, které měly pozitivní vliv na eliminaci mšice. Je však potřeba prozkoumat

ještě účinky *Citrullus colocynthis* na přirozené nepřátele škůdců před doporučením této alternativy jako náhrady syntetických pesticidů (Asiry 2015).

9.2.3.3 Kyjatka zahradní (*Macrosiphum euphorbiae* Thomas)

Tato studie byla zaměřena na repelentní účinky a toxicitu esenciálních olejů proti kyjatce zahradní. Tímto výzkumem se zabýval Munneke et al. (2004). Zkoumán byl také účinek na rostliny ošetřené esenciálními oleji, použity byly oleje z bazalky, citrusu, eukalyptu, levandule, máty, tymiánu a komerční přípravky obsahujících silice, PRI(D), Denka A, Denka B, Denka C. Při testování repelentní aktivity byly využity všechny možné kombinace, například různé formulace přípravku (rychle se uvolňujícího či pomalu) nebo různého vývojového stádia kyjatky. Dalším druhem testu bylo použití větrného tunelu. Zkoumána také byla toxicita jednotlivých extraktů.

Testy prokázaly repelentní účinky u šesti vzorků. Velkou roli na odpuzování mšic hrála hostitelská rostlina. Například Denka B (rychle se uvolňující) aplikovaná na rostliny lilku měla repelentní účinky, zatímco aplikovaná na rostliny bramboru kyjatky přitahovala. Přípravky s rychlým uvolňováním působily více repelentně. V pokusech s větrným tunelem bylo zjištěno, že použitím Denka C a Denka Blanco společně, byla dosažena vyšší repelentní účinnost. Přípravky s pomalým uvolňováním byly efektivnější, pravděpodobně v důsledku prodlouženého repelentního účinku. Při testu toxicity prokázalo sedm z deseti testovaných esenciálních olejů (bazalka, levandule, máta, PRI(D), Denka B, Denka A, Denka C) výrazně vyšší mortalitu než u neošetřených rostlin. U tří z těchto esenciálních olejů (PRI(D), Denka B, Denka C) byla mortalita kyjatek vyšší než 80 %, 72 h po ošetření (Munneke 2004).

9.2.3.4 Hád'átko (*Xiphinema index* Thorne & Allen)

Studií o možnostech použití saponinů z vojtěšky seté (*Medicago sativa* L.), tolíce arabské (*Medicago arabica* L. Huds) a tolíce stromovité (*Medicago arborea* L.) proti parazitickému hád'átku *Xiphinema index*, se zabývala Argentieri et al. (2008). Zkoumány byly účinky saponinů z *Medicago spp.* v různých koncentracích. Saponiny byly získány z nadzemních částí rostlin. Z *M. sativa* a *M. arborea*, byl použit také extrakt z kořene. Hád'átka byla vystavena testovacím roztokům v různých koncentracích. U jedinců vykazujících nedostatek pohybu byl nematocidní účinek saponinů evidentní. Z výsledků pokusu vyplynulo, že extrakt z nadzemní části *M. arborea*, byl méně efektivní než ostatní testované extrakty. Saponiny 100% indukovaly mortalitu v dávkách 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$ za 8 – 48 h zatímco u

prosapogeninů už v dávce 125 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Použití saponinů z *Medicago ssp.* lze pravděpodobně využít k vytvoření nových prostředků na hubení háďátek (Argentieri et al. 2008).

9.2.3.5 Křísci (*Auchenorrhyncha*)

Studii, jejímž cílem bylo zhodnotit účinnost oleje z česneku (*Allium sativum* L.), eukalyptu (*Eucalyptus globulus* Labill.) a dvou organofosforových pesticidů, na schopnost kontrolovat škůdce jako jsou křísci a mšice v polních podmínkách, se zabýval Mousa et al. (2013). Jako organofosforové insekticidy byly použity Dimethoate 30 % EC a Pestban 48 % EC, z esenciálních olejů byly použity oleje z česneku a eukalyptu. Všechny varianty byly před aplikací zředěny na 3 %. Efekt oleje z česneku na redukci populace křísků byl nejvyšší pátý den po aplikaci (87,6 %), průměrná účinnost byla 68,09 %. Olej z česneku byl také nejvíce efektivní na redukci populace mšic (90,89 %). Esenciální olej z eukalyptu byl také nejvíce efektivní pátý den po aplikaci s redukcí populace křísků o 54,46 % a redukcí populace mšic o 80,66 %. Nejvyšší redukci populace křísků prokázal olej z česneku společně s pestbanem a dimethoatem, menší účinek měl olej z eukalyptu. Z výsledků vyplývá že chemické insekticidy působily lépe a rychleji, na druhou stranu oleje z česneku a eukalyptu dokázaly částečně zachovat přirozené nepřátele škůdců (Mousa et al. 2013).

9.2.3.6 Mšice kukuřičná (*Rhopalosiphum maidis* Fitch)

Pokusy s repelentními účinky komerčních přípravků a přírodních látek prováděl Halbert et al. (2008). Účinné látky byly zkoumány na *Rhopalosiphum maidis*. Testovaným komerčním přípravkem byl například insekticid DEED (N,N-diethylm-methylbenzamide). Z přírodních látek byly testovány například oleje z česneku a kešu. Dále také některé těkavé látky z druhu *Artemisia* spp. Celkem bylo testováno 55 různých látek. Většina testovaných nevykázala žádné repelentní účinky, avšak některé z nich jako například b-citronellol, geranidol, farsenol, linalool, z rostlin *Artemisia* sp. a řebříček obecný (*Achillea millefolia* L.) vykazovaly potenciál pro jejich využití jako repelentů (Halbert et al. 2008).

9.2.4 Indukovaná rezistence (IR)

Indukovaná rezistence je fyziologický stav zvýšené obranyschopnosti rostliny vyvolané specifickými podmínkami, kterými je přirozená obranyschopnost zvýšena (Hammerschmidt & Kuc 1995). Indukovanou rezistenci lze vyvolat chemickými, fyzikálními a biologickými aktivátory. V indukci rezistence hrají důležitou roli chemické látky jako například ASM (acibenzolar-S-methyl), Probenazole, BABA (aminomáselná kyselina), Sacharin, Silicon, Biochar atd. ASM je schopný vyvolat rezistenci proti velké skupině rostlinných patogenů, Probenazole je aktivním

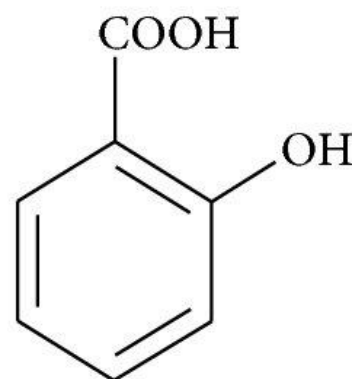
metabolitem a indukuje SAR signální dráhu. K biologickým aktivátorům pak patří mykorhizní houby, rhizobakterie a houby podporující růst rostlin například *Pseudomonas fluorescens* Migula, extrakty z řas a některé houby z rodu *Trichoderma* sp. (Walters 2013). Poslední možností, jak vyvolat rezistenci je fyzikálně, například tepelným ošetřením za pomoci horké vody nebo vzduchu, nebo pomocí radiace (Schafique et al. 2011). IR může být buď lokální v místě ošetření nebo může být systemická a tím pádem může být efektivní ve všech částech rostliny i v těch vzdálených od místa indukce (Hammerschmidt & Kuc 1995). Existují čtyři typy této rezistence, a to rezistence ISR (induced systemic resistance - indukovaná systémová rezistence), SAR (systemic acquired resistance – systémově vyvolaná rezistence), LAR (local acquired resistance – lokálně získaná rezistence) a WIR (wound-induced resistance – indukovaná rezistence proti poranění býložravým hmyzem) (Věchet 2010). Systémově získaná rezistence (SAR) je charakterizována jako úplná. Není cílena pouze k jednomu patogenu. Je to rezistence tkání rostliny vzdálených od místa vniku patogenu. U tohoto typu rezistence je nutná přítomnost signální molekuly SA. Tato reakce může započít vystavením rostliny patogenu nebo lze spuštění docílit uměle pomocí chemikálií. U systémově získané rezistence dochází k akumulaci PR proteinů. Indukovaná systémová rezistence (ISR) je zajištěna pomocí rhizosférických bakterií které stimulují růst rostliny. Druh *Pseudomonas ssp.* má schopnost částečně eliminovat půdní patogeny (Věchet 2010; Walters et al. 2013). Při lokálně získané rezistenci (LAR) dochází k akumulaci antimikrobiálních sloučenin v rostlině, to vše se děje v místě vzdáleném od infekce (Věchet 2010). U WIR rezistence po napadení rostlin dochází k redukci aktivity enzymů býložravého hmyzu (Stitcher et al. 1997).

9.2.4.1 Signální molekuly spouštějící IR

U rostlin se jako obrana vůči abiotickým a biotickým stresům vyvinuly rozpoznávací a signální systémy, které umožňují rostlině poznat vstup patogenu a zahájit efektivní obranou reakci (Ballhorn et al. 2009). Při interakci hostitelské rostliny a patogenu reagují rostliny zvýšenou produkcí látek, které slouží jako rostlinné signální molekuly. Mezi tyto látky patří kyselina salicylová, kyselina jasmonová, etylen a pravděpodobně také oxid dusnatý. Exogenní aplikace kyseliny salicylové (SA), kyseliny jasmonové (JA), etylenu (ET) a oxidu dusnatého (NO), má za následek vyšší stupeň rezistence k patogenům (Agrios 2005). Důsledkem toho je tvorba sekundárních metabolitů. Tyto metabolity plní řadu různých funkcí, jako je ochrana rostliny proti predátorům, mikrobům a abiotickým stresům (Schäfer & Wink 2009). Mají také významný vliv na růst a vývoj. Má se za to, že v obranném mechanismu rostlin je zapojeno více než 100 000 sekundárních metabolitů (Wink 2008). Mezi sekundární metabolity patří

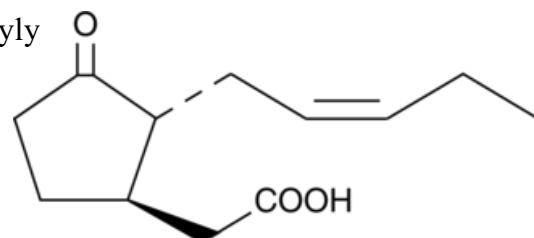
alkaloidy, fenoly a flavonoidy, tyto látky mohou mít antivirotické účinky (Moloudizargari et al.,2013; Erharuyia et al.,2014). Například alkaloid z bohyšky jitrocelové (*Hosta plantaginea* Lam.) vykazuje antivirotické účinky proti TMV nebo extrakt z *Brucea javanica* (L.) Merr, potlačuje TMV, CMV, PVY (Wang et al. 2007; Shen et al. 2015). Metabolity produkované v reakci na infekci nazýváme fytoalexiny, zatímco fytoanticipiny slouží k úschově obranných metabolitů v rostlinných tkáních (Müller & Börger 1940; Paxton 1981). Sekundární metabolity mohou rostlinu chránit před hmyzími škůdci, a to za pomoci fytoanticipinů, které při narušení rostlinné tkáně produkují biocidní aglykon B-glukosinázu, účinkující jako repelent, zatímco fytoalexiny ovlivňují výkon hmyzu (Walling 2000; Nuessly et al. 2007).

Kyselina salicylová (SA) je rostlinný hormon. Jedná se o fenolickou sloučeninu, která má významný podíl na aktivaci obranného mechanismu, slouží především k aktivaci SAR (systemic acquired resistance) a vyznačuje se zvýšenou expresí obranných proteinů (Delaney et al. 1994; Wildermuth et al. 2001). Kyselina salicylová, není zapojena pouze do imunitní odpovědi rostliny, ale také do jejího vývoje. Má například vliv na kvetení (Jin et al. 2008). Vliv kyseliny salicylové na rezistenci, vůči virům byl poprvé demonstrován na rostlinách tabáku napadených virovou mozaikou (White 1979). Obranný mechanismus aktivovaný SA slouží především jako obrana proti biotrofům. U rostlin, ve kterých je přítomna SA dochází k potlačení odezvy na poranění, která by bez přítomnosti SA byla indukována jasmonovou kyselinou (van Wees et al. 1999). Některé patogeny jako například *Pseudomonas syringe* van Hall, však dokáží u rostlin indukovat obě signální dráhy SA i JA (Spoel et al. 2003).



Obrázek 6 Strukturní vzorec kyseliny salicylové
<https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-a-salicylic-acid-and-b-urea-7_fig5_292949277>

Jasmonáty, deriváty kyseliny jasmonové (JA), byly v rostlinách identifikovány jako nezbytné signály v reakci na stres a jako regulátory růstu (Podlešáková et al. 2014). Akumulací JA indukovaných proteinů dojde ke změnám v genové expresi (Wasternack 2017) a také k vytvoření sekundárních metabolitů jako jsou antokyany, nikotinoidy, glukosinoláty, terpenové inodolové alkaloidy, tyto sekundární metabolity mohou být indukovány endogenním zvýšením JA, ke



Obrázek 7 Strukturní vzorec kyseliny jasmonové
<<https://www.caymanchem.com/product/88300/>>

kterému může dojít v důsledku abiotických a biotických stresů (Chini et al. 2016). Obranné mechanismy spuštěné kyselinou jasmonovou slouží převážně k ochranně proti nekrotrofním organismům a v případě poranění (Kunkel et al. 2002).

Český trh zatím nemá žádný registrovaný přípravek elicitujícího charakteru. Patogenem produkované elicitory mohou vyvolat obranný mechanismus v rostlině. Elicitory zahrnují široké spektrum molekul různého původu (Pavela 2011). Některé jsou hostitelsky specifické a vyvolávají obranou odpověď organismu vedoucí k rezistenci rostliny k určitému patogenu, jako je to u elictorů produkovaných *avr* geny interagujících se shodnými *R* rezistentními geny v hostitelské rostlině. Jakmile jsou elicitory rozpoznány dojde u hostitele k aktivaci kaskády genů, která má za následek propuknutí oxidativní reakce, roztržení buněčných membrán a uvolnění fenolů a dalších toxických látek. To vše pak vede k hypersenzitivní reakci. HR je proces programované buněčné smrti v místě napadení patogenem. Dojde k inhibici patogenu, a to vyústí v rezistenci rostliny (Agrios 2005).

Indukovaná rezistence, u virů popsaných v této práci, nebyla zkoumána. Zdokumentované jsou však případy vyvolání indukované rezistence proti virům ze stejné čeledi nebo stejnou strukturou genomu.

9.2.4.2 Indukovaná rezistence proti komplexu virů žluté lžičkovitosti rajčete (TYLCV)

Tento pokus byl zde zahrnut, jelikož patří do stejné čeledi (*Geminiviridae*) jako virová zakrslost pšenice WDV. Cílem této studie bylo zjistit antivirotickou účinnost léčivých rostlin zázvoru lékařského (*Zingiber officinale* Roscoe), máty dlouholisté (*Mentha longifolia* L.) a nanočástic oxidu křemičitého proti TYLCV. Pokusem se zabýval El-Sawy et al. (2018). První pokus probíhal ve skleníkových podmínkách. Vybrány byly rostliny rajčat ve stádiu šesti listů. Na infikované rostliny byly den před inokulací viru aplikovány extrakty ze zázvoru, máty a oxidu křemičitého v dávkách 50, 10, 200 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Druhý pokus probíhal v polních podmínkách. V rámci celého pokusu byl také měřen efekt extraktů, a oxidu křemičitého na růst a výnos. Rostliny po provedení pokusu vykazovaly menší závažnost průběhu choroby, pokud přípravky byly aplikovány v dávkách o koncentraci 200 $\mu\text{g ml}^{-1}$ v polním i skleníkovém pokusu. Výtažky ze zázvoru byly efektivnější oproti výtažku z rostlin máty, celkově pak byly tyto výtažky efektivnější než nanočástice oxidu křemičitého na vir TYLCV. Zároveň všechny přípravy vykazovaly pozitivní vliv na růst a výnos rostlin rajčete (El-Sawy et al. 2018).

9.2.4.3 Antivirový účinek rostlinného extraktu z vratiče obecného na Y virus bramboru a na virovou mosaiku okurky

Antivirový účinek rostlinného extraktu z vratiče obecného (*Tanacetum vulgare* L.) na Y virus bramboru (PVY) a na virovou mosaiku okurky (CMV) zkoumal Petrov et al. (2016). Z rostlin *Tanacetum vulgare* byl připraven metanolvý extrakt. Pokus se prováděl na rostlinách tabáku nakažených těmito viry. Rostliny byly rozděleny do 4 kategorií. První kategorie zahrnovala rostliny, které byly ošetřeny po inokulaci viru, druhá kategorie byly rostliny neošetřené a infikované viry, ve třetí kategorii byly rostliny pouze zdravé, které byly ošetřovány extrakty, a v poslední kategorii byly rostliny nakažené virem které nebyly ošetřované. Na rostliny byla aplikována dávka 5–15 ml roztoku extraktů. Všechny testované rostliny ošetřované 30% extraktem nevykazovaly známky fytoxicity přípravku. Koncentrace extraktů větší než 20 % redukovaly v testu DAS-ELISA hodnoty rostlin nakažených CMV a PVY. Koncentrace 5 % u CMV a 10 % u PVY byly dostatečné na zastavení vývoje virové infekce. Naopak koncentrace menší než 5% nebyly dostatečné, aby se dosáhlo nějakého účinku. Do čeledě *Bromoviridae* stejně jako CMV patří také viry PRNSV a ApMV na které prozatím nebyly provedeny samostatné pokusy (Petrov et al. 2016).

9.2.4.4 Antivirotická aktivita extraktů z *Thuja orientalis* proti viru mozaiky melounu vodního (WMV)

Studii jejímž cílem bylo prozkoumat antivirotickou aktivitu extraktu z *Thuja* sp. Prováděl Elbeshehy et al. (2015). Zkoumán byl účinek extraktů v různých koncentracích na multiplikaci viru WMV. Připraveny byly extrakty o koncentraci 2, 4, 6 g l⁻¹. K jejich aplikaci na rostliny libenice obecné (*Citrullus lantanus* Thunb.) došlo v *in vitro* podmínkách. Z provedených pokusů vyplynulo že extrakt o koncentraci 6 g l⁻¹ dokázal inhibovat multiplikaci viru WMV. Menšího efektu dosahovaly koncentrace 2, 4 g l⁻¹. Při aplikaci extraktu z *Thuja* sp. došlo k redukci projevu postupu viru, nejlepšího výsledku bylo dosaženo koncentrací 6 g l⁻¹. Antivirová aktivita extraktu z *Thuja* sp. spočívá v přímé interakci s virovými částicemi. V počátečním stavu infekce tak může zabránit jejímu rozvoji (Elbeshehy et al. 2015).

10 Závěr

V této práci bylo cílem shrnout poznatky z úspěšných pokusů, které se zabývaly působením rostlinných extraktů na přenašeče vybraných virových chorob a na vyvolání indukované rezistence u rostlin. Jelikož stále neexistuje přímá ochrana proti rostlinným virům je nutné bojovat proti škůdcům. Jako méně škodlivé alternativy se nabízejí botanické pesticidy, které by byly šetrné k životnímu prostředí, lidskému zdraví a nehubily přirozené nepřátele hmyzích škůdců. V pokusech s přírodními extrakty proti přenašečům bylo dobrých výsledků dosaženo použitím přípravků na bázi oleje z *Pogonia pinnata* a *Cinnamomum verum*. Insekticidní účinek na *Macrosiphum euphorbiae*, *Aphis gossypii*, *Myzus persicae*, měl esenciální olej z máty v kombinacích s etanolem a metanolem. Vodný extrakt z *Citrullus colocynthis* působil insekticidně na *Rhopalosiphum padi*. V pokusech bylo dobrých výsledků dosaženo použitím esenciálních olejů z máty, levandule, bazalky, česneku a saponinů z *Medicago* spp. Jako repelenty byly účinné látky z rostlin *Artemisia* sp. a *Achillea millefolium*. Tyto extrakty se ukázaly jako účinné, proto by bylo možné je využít v ochraně rostlin proti přenašečům. Do budoucna by postupující výzkum měl potenciálně odhalit i další botanické pesticidy, které by bylo možné použít. Jednou z dalších nabízejících se možností, jak bojovat proti rostlinným virům je využitím indukované rezistence, kterou lze u rostlin vyvolat různými způsoby, například za pomoci rostlinných extraktů. V úspěšných pokusech s vyvoláním indukované rezistence proti virům se jako účinné ukázaly extrakty z *Thuja* sp., *Tanacetum vulgare*. K vyvolání indukované rezistence bylo dosaženo také pomocí extraktů ze zázvoru lékařského a máty dlouholisté. Tyto přípravky a mnohé další by mohly do budoucna posloužit jako antivirové přípravky proti rostlinným virům. Je však nutné prozkoumat i další rostlinné extrakty a jejich účinek na konkrétní viry.

11 Seznam použité literatury

- Agrios GN. 2005. Plant pathology: Fifth edition. Academic Press. San Diego.
- Al-Antary TM, Belghasem IH, Alaraj SA. 2017. Effect of Mint Oil Against the Green Peach Aphid *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae) Using Four Solvents. *Advances in Environmental Biology* **11**:61-67.
- Argentieri MP, D'Addabbo T, Tava A, Agostinelli A, Jurzysta M, Avato P. 2008. Evaluation of nematicidal properties of saponins from *Medicago* spp. *European Journal of Plant Pathology* **120**:189-197.
- Asiry KA. 2015. Aphidicidal activity of different aqueous extracts of bitter apple *Citrullus colocynthis* (L.) against the bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* (L.) (Homoptera: Aphididae) under laboratory conditions. *The Journal of Animal & Plant Sciences* **25**:456-462.
- Ballhorn DJ, Kautz S, Heil M, Hegeman AD. 2009. Cyanogenesis of wild lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) is an efficient direct defence in nature. *Plant Signaling & Behavior* **4**:735–745.
- Burchett S, Burchett S. 2017. Plant pathology. Garland Science, Taylor & Francis Group, New York.
- D'Arcy CJ, Domier LL. 2000. Barley yellow dwarf. *The Plant Health Instructor*
- Delaney TP, Uknes S, Vernooij B, Friedrich L, Weymann K, Negrotto D, Gaffney T, Gut-Rella M, Kessmann H, Ward E, Ryals J. 1994. A central role of salicylic acid in plant disease resistance. *Science* **266**:1247–1250.
- Dent D. 2000. Insect Pest Management. CABI, Wallingford.
- Dimmock NJ, Easton AJ, Leppard KN. 2016. Introduction to modern virology. John Wiley & Sons, Inc, Hoboken.
- Domier LL. 2008. Barley Yellow Dwarf Viruses. Elsevier Ltd. USA.
- Elbeshehy EF, Metwali E, Almaghrabi AA. 2015. Antiviral activity of *Thuja orientalis* extracts against watermelon mosaic virus (WMV) on *Citrullus lanatus*. *Saudi Journal of Biological Sciences* **22**:211-219.
- El-Sawy MM, Elsharkawy MM, Abass JM, Hagag ES. 2018. Inhibition of Tomato Yellow Leaf Curl Virus by *Zingiber officinale* and *Mentha longifolia* Extracts and Silica Nanoparticles. *International Journal of Antivirals & Antiretrovirology* **1**:1-6.

- Erharuyia O, Faloduna A, Langer P. 2014. Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of *Picralima nitida* (Apocynaceae) in tropical diseases: a review. *Asian Pacific journal of tropical medicine* **7**:1–8.
- Francki R, Fauquet C, Knudson D, Brown F. 1991. *Classification and Nomenclature of Viruses: Fifth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Springer Vienna. Vídeň.
- George JA, Davidson TR. 1963. Pollen transmission of sour cherry yellows viruses from tree to tree. *Canadian Journal of Plant Science* **43**:276-288.
- Grimová L, Winkowska L, Konrady M, Ryšánek P. 2016. Apple mosaic virus. *Phytopathologia Mediterranea* **55**:1-19.
- Halbert SE, Corsini D, Wiebe M, Vaughn SF. 2008. Plant-derived compounds and extracts with potential as aphid repellents. *Annals of Applied Biology* **154**:303-307.
- Hammerschmidt R, Kuc J. 1995. *Induced resistance to disease in plants*. Kluwer Academic Publishers. Boston.
- Hori M. 1998. Repellency of Rosemary Oil Against *Myzus persicae* in a Laboratory and in a Screenhouse. *Journal of Chemical Ecology* **24**:1425-1432.
- Hull R. 2001. *Matthews' Plant Virology*. Academic Press, San Diego.
- Hull R. 2009. *Comparative plant virology*. Elsevier/Academic Press, Amsterdam.
- Hull R. 2013. *Plant Virology*. Elsevier Science & Technology, San Diego.
- Chini A, Gimenez-Ibanez S, Goossens A, Solano R. 2016. Redundancy and specificity in jasmonate signalling. *Current Opinion in Plant Biology* **33**:147-156.
- Chrpová J, Sumíková T, Kumar J, Váňová M, Bílovský J, Veškrna O. 2017. Ochrana obilnin proti virovým chorobám (BYDV a WDV). Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i, Praha.
- Ingwell LL, Zemetra R, Mallory-Smith C, Bosque-Pérez NA. 2014. *Arundo donax* infection with Barley yellow dwarf virus has implications for biofuel production and non-managed habitats. *Biomass and Bioenergy*. **66**:426-433.
- Jin JB, Jin YH, Lee J, Miura K, Yoo CY, Kim WY, Van Oosten M, Hyun Y, Somers DE, Lee I, Yun DJ, Bressan RA, Hasegawa PM. 2008. The SUMO E3 ligase, AtSIZ1, regulates flowering by controlling a salicylic acid-mediated floral promotion pathway and through affects on FLC chromatin structure, *The Plant Journal* **53**:530–540.
- Kazda J. 2003. *Choroby a škůdci polních plodin, ovoce a zeleniny*. Martin Sedláček, Praha.

- Kazda J, Mikulka J, Prokinová E. 2010. Encyklopedie ochrany rostlin: polní plodiny. Profi Press, Praha.
- Khan JA, Dijkstra J. 2006. Handbook of plant virology. Food Products Press, New York.
- Kunkel BN, Brooks DM. 2002. Cross talk between signaling pathways in pathogen defense. *Current opinion in plant biology* **5**:325–331.
- Koul O, Dhaliwal GS, Khokhar S, Singh R. 2014. *Biopesticides in Sustainable Agriculture Progress and Potential*. Scientific Publishers. Jodhpur.
- Kůdela V, Bartoš P, Čača Z, Drilbek J, Frič F, Lebeda A, Šebesta J, Ulrychová M, Valášková E, Veselý D. 1989. *Obecná fytopatologie*. Nakladatelství akademie věd. Praha
- López M, Bertolini E, Olmos A, Caruso P, Gorris MT, Llop P, Penyalver R, Cambra M. 2003. Innovative tools for detection of plant pathogenic viruses and bacteria. *International Microbiology* **6**:233-243.
- Makeš M, Häni F, Dušková P, Lokaj Z. 1993. *Obrazový atlas chorob a škůdců polních plodin: příručka ochrany rostlin v integrované produkci*. Scientia, Praha.
- Moloudizargari M, Mikaili P, Aghajanshakeri S, Asghari HM, Shayegh J. 2013. Pharmacological and therapeutic effects of *Peganum harmala* and its main alkaloids. *Pharmacognosy Review* **7**:199–212.
- Mousa KM, Khodeir IA, El-Dakhakhni TN, Youssef AE. 2013. Effect of Garlic and Eucalyptus oils in comparison to Organophosphat insecticides against some Piercing-Sucking Faba bean insect Pests and natural enemies populations. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences* **5**:21-27.
- Munneke ME, Schuurman-de Bruin A, Moskal JR, van Tol RWHM. 2004. Repellence and toxicity of plant essential oils to the potato aphid, *Macrosiphum euphorbiae* **15**:81-85.
- Müller KO, Börger H. 1940. Experimentelle Untersuchungen über die Phytophthora-Resistenz der Kartoffel. *Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt für Land-und Forstwirtschaft* **23**:189–231.
- Nuessly GS, Scully BT, Hentz MG, Beiriger R, Snook ME, Widstrom NW. 2007. Resistance to *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: noctuidae) and *Euxesta stigmatias* (Diptera: ulidiidae) in sweet corn derived from exogenous and endogenous genetic systems. *Journal of economic entomology* **100**:1887–1895.

- Oerke EC, Dehne HW. 2004. Safeguarding production – losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Protection* **23**:275-285.
- Pavela R. 2011. *Botanické pesticidy*. Kurent, České Budějovice.
- Paxton JD. 1981. Phytoalexins – a working redefinition. *Journal of Phytopatology* **101**:106–109.
- Pethybridge SJ, Wilson CR, Sherriff LJ, Leggett GW, Munro D. 2000. Virus incidence in Australian hop (*Humulus lupulus* L.) gardens and cultivar differences in susceptibility to infection. *Australian Journal of Agricultural Research* **51**:685-689.
- Pethybridge SJ, Wilson CR, Hay FS, Leggett GW, Sherriff LJ. 2002. Mechanical transmission of Apple mosaic virus in Australian hop (*Humulus lupulus*) gardens. *Annals of Applied Biology* **141**:77–85.
- Pethybridge SJ, Hay FS, Barbara DJ, Eastwell KC, Wilson CR. 2008. Viruses and viroids infecting hop significance, epidemiology and management. *Plant Disease* **92**:324-338.
- Petrov N, Stoyanova M, Valkova M. 2016. Antiviral activity of plant extract from *Tanacetum vulgare* against Cucumber Mosaic Virus and Potato Virus Y. *Journal of BioScience and Biotechnology* **5**:189-194.
- Podlešáková K, Tarkowská D, Penčík A, Oklešťová J, Turečková V, Floková K, Tarkowski P. 2012. Nové trendy v analýze fytohormonů. *Chemické listy* **106**:373-379.
- Prakash A, Rao J, Nandagopal V. 2008. Future of Botanical Pesticides in rice, wheat, pulses and vegetables pest management. *Journal of Biopesticides* **1**:154-169.
- Probasco EG, Murphey JM. 1996. The effects of hop viruses on brewing and agronomic characteristics in the hop variety chinook. *Technical Quarterly* **33**:160-165.
- Ripl J, Holý K, Kocourek F, Kumar J. 2008. *Metodika ochrany obilnin proti viru zakrslosti pšenice a jeho vektoru křísku polnímu*. Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i. Praha.
- Shafique S, Anjum T, Shafique S, Ahmad A, Akram W, Bashir Z. 2011. Induction of systemic defenses in plants under the activity of dynamic inducers. *Mycopath* **9**:95-104.
- Shen E, Zou J, Behrens FH, Chen L, Ye C, Dai S, Fan L. 2015. Identification, evolution, and expression partitioning of miRNAs in allopolyploid *Brassica napus*. *Journal of Experimental Botany* **66**:7241–7253.

- Schalk HJ, Matzeit V, Schiller B, Schell J, Gronenborn B. 1989. Wheat dwarf virus, a geminivirus of graminaceous plants needs splicing for replication. *The EMBO Journal* **8**:359-364.
- Schäfer H, Wink M. 2009. Medicinally important secondary metabolites in recombinant microorganisms or plants: progress in alkaloid biosynthesis. *Biotechnology Journal* **4**:1684-1703.
- Scholthof KG, Adkins S, Czosnek H, Palukaitis P, Jacquot E, Hohn T, Hohn B, Saunders K, Candresse T, Hemenway C, Foster GD. 2011. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* **12**:938-954.
- Singh V, Pande P, Jain D. 2009. *Textbooks of Botany*. Global Media, Meerut.
- Spoel SH, Koornneef A, Claessens SM, Korzelijs JP, Van Pelt JA, Mueller MJ, Buchala AJ, Metraux JP, Brown R, Kazan K, Van Loon LC, Dong X, Pieterse CM. 2003. NPR1 modulates cross-talk between salicylate- and jasmonate-dependent defense pathways through a novel function in the cytosol. *The Plant Cell* **15**:760–770.
- Stepanycheva EA, Petrova MO, Chermenskaya TD, Pavela R. 2014. Prospects for the Use of *Pongamia pinnata* Oil-Based Products against the Green Peach Aphid *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). *Psyche: A Journal of Entomology* **2014**:1-5.
- Stitcher L, Mauch-Mani B, Metraux JP. 1997. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology* **35**:235-270.
- Svoboda P. 2009. *Metodika diagnostiky viru chmele a ochrana proti virovým chorobám: Metodika pro praxi 03/09*. Chmelařský institut s.r.o. Žatec.
- Talich P, Řehák V, Kocourek F, Ackermann P. 2013. *Metodická příručka integrované ochrany rostlin proti chorobám, škůdcům a plevelům*. Česká společnost rostlinolékařska, Praha.
- Thresh JM. 1983. Progress curve of plant virus disease. *Applied Biology* **82**:381-406.
- Undas AK, Weihrauch F, Lutz A, van Tol R. 2018. The use of Metabolomics to Elucidate Resistance Markers Against Damson-Hop Aphid. *Journal of Chemical Ecology* **44**:1-16.
- Vacke J. 1961. Wheat dwarf virus disease. *Biologia Plantarum* **3**:228-233.
- Van Wees SC, Luijendijk M, Smoorenburg I, van Loon LC, Pieterse CM. 1999. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* is not associated with a direct effect

on expression of known defense-related genes but stimulates the expression of the jasmonate-inducible gene *Atvsp* upon challenge. *Plant molecular Biology* **41**:537–549.

Věchet L. 2010. *Biologická ochrana a indukovaná rezistence rostlin k chorobám a škůdcům*. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha.

Vostřel J. 2008. *Metodika ochrany chmele proti mšici chmelové (Phorodon humuli Schrank)*. Chmelářský Institut, Žatec.

Walling LL. 2000. The myriad plant responses to herbivores. *Journal of Plant Growth Regulation* **19**:195–216.

Walters DR, Ratsep J, Havis ND. 2013. Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. *Journal of Experimental Botany* **64**:1263-1280.

Walters D, Newton AC, Lyon GD, editors. 2014. *Induced Resistance for Plant Defense : A Sustainable Approach to Crop Protection*. John Wiley & Sons, Incorporated, Somerset.

Wang YH, Zhang ZK, Yang FM, Sun QY, He HP, Di YT, Mu SZ, Lu Y, Chang Y, Zheng QT, Ding M, Dong JH, Hao XJ. 2007. Benzylphenethylamine alkaloids from *hosta plantaginea* with inhibitory activity against tobacco mosaic virus and acetylcholinesterase. *Journal of natural products* **70**:1458–1461.

Wasternack C, Strnad M. 2017. Jasmonates are signals in the biosynthesis of secondary metabolites — Pathways, transcription factors and applied aspects — A brief review. *New Biotechnology* **48**:1-11.

White RF. 1979. Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco. *Virology* **99**:410–412.

Wildermuth MC, Dewdney J, Wu G, Ausubel FM. 2001. Isochorismate synthase is required to synthesize salicylic acid for plant defence, *Nature* **414**:562–565.

Wink M. 2008. Plant secondary metabolism: diversity, function and its evolution. *Natural Product Communications* **3**:1205–1216.

11.1 Internetové zdroje

Agromanuál. 2016. *Agromanuál.cz*. Kurent.s.r.o. České Budějovice. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/skudci/dusledky-seti-insekticidne-nemoreneho-osiva-ozime-repky> (accessed January 2019)

Agromanuál. 2018. Agromanuál.cz. Kurent s.r.o. České Budějovice. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/atlas/vykladovy-slovník/cirkulativni-prenos&asort=C> (accessed January 2019).

Agromanuál. 2017. Agromanuál.cz. Kurent s.r.o. České Budějovice. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/choroby/virove-choroby-obilnin-a-ochrana-proti-nim> (accessed April 2019)

International Committee on Taxonomy of Viruses. 2011. ICTV Online. Available from https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/265/luteoviridae (accessed December 2018).

International Committee on Taxonomy of Viruses. 2011. ICTV Online. Available from https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/ssdna-viruses/w/geminiviridae/394/genus-mastrevirus (accessed December 2018).

International Committee on Taxonomy of Viruses. 2011. ICTV Online. Available from https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/251/bromoviridae (accessed December 2018).

International Committee on Taxonomy of Viruses. 2011. ICTV Online. Available from https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/negative-sense-rna-viruses-2011/w/negrna_viruses/199/paramyxoviridae (accessed December 2018).

International Committee on Taxonomy of Viruses. 2011. ICTV Online. Available from https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/picornavirales/w/secoviridae/591/genus-nepovirus (accessed December 2018).

International Committee on Taxonomy of Viruses. 2011. ICTV Online. Available from https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/241/betaflexiviridae (accessed December 2018).

Ministerstvo zemědělství ČR. 2018. Rostlinolékařský portál. Eagri.cz. Ministerstvo zemědělství. Praha. Available from http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c8d8a84%22#fotogalerie|hledej:BYDV|so:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c8d8a84 (accessed January 2019).

Ministerstvo zemědělství ČR. 2018. Rostlinolékařský portál. Eagri.cz. Ministerstvo zemědělství .Praha .Available from

http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c9e43d6%22#fotogalerie|hledej:k%C5%99%C3%ADsek%20poln%C3%AD|so:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c9e43d6 (accessed January 2019).

Ministerstvo zemědělství ČR. 2018. Registr přípravků na ochranu rostlin. Eagri.cz. Ministerstvo zemědělství. Praha. Available from <http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx?type=0&vyhledat=A&stamp=1555356040952> (accessed January 2019).

Ministerstvo zemědělství ČR. 2016. Eagri.cz. Ministerstvo zemědělství. Praha. Available from http://eagri.cz/public/web/file/528195/SVZ_Obiloviny_12_2016.pdf (accessed January 2019).