

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Výskyt virů v porostech tykvovité zeleniny a cukrové řepy
a jejich epidemiologie**

Bakalářská práce

Erika Gallová

Rostlinná produkce (FYTOB)

prof. Ing. Pavel Ryšánek, CSc.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Výskyt virů v porostech tykvovité zeleniny a cukrové řepy a jejich epidemiologie" 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 neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 28. 4. 2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala prof. Ing. Pavlu Ryšánkovi, CSc. za odborné vedení a dohled při zpracování této bakalářské práce. Poděkování patří též Ing. Lence Grimové, Ph.D. za cenné rady, odborné konzultace, ochotu a vstřícnost. Děkuji své rodině a nejbližším za neutuchající podporu, které si hluboce vážím.

Výskyt virů v porostech tykvovité zeleniny a cukrové řepy a jejich epidemiologie

Souhrn

Rostlinné viry jsou významnými patogeny řady důležitých plodin. V této bakalářské práci byla věnována pozornost zejména virům cukrové řepy, které způsobují onemocnění virovými žloutenkami. Jmenovitě se jedná o žloutenky řepy (BYV), virus mírného žloutnutí řepy (BMV) a virus chlorózy řepy (BChV). Byla popsána symptomatologie a epidemiologie těchto virů a vliv na tvorbu výnosu a kvalitu cukrové řepy. Další skupinou rostlinných virů, které byly předmětem této práce, jsou viry napadající tykvovitou zeleninu. Byla popsána symptomatologie a epidemiologie viru mozaiky cukety (ZYMV), viru mozaiky okurky (CMV), viru mozaiky melounu (WMV) a dalších méně známých virových patogenů tykvovitých plodin. Dále byly popsány potenciální zdroje rostlinných virových infekcí ve formě volně rostoucích plevelných rostlin.

V rámci experimentální části této bakalářské práce byly pomocí diagnostické metody ELISA testovány vzorky tykvovité zeleniny z několika lokalit ve Středočeském a Ústeckém kraji na přítomnost vybraných virových patogenů. Cílem bylo zjistit jejich aktuální výskyt a porovnat výsledky s daty z první dekády tohoto tisíciletí. Z celkového počtu 158 testovaných vzorků vykazovalo 61,39 % pozitivitu na přítomnost ZYMV, 43,67 % vykazovalo pozitivitu na přítomnost CMV a 72,15 % vykazovalo pozitivitu na přítomnost WMV. V rámci testování byly také detekovány viry méně obvyklé, z nichž některé nebyly doposud v České republice popsány.

Pomocí metody ELISA byly testovány vzorky plevelných rostlin odebrané v okolí pozemků, kde se v předchozím pěstebním období vyskytovaly porosty tykvovité zeleniny se silným výskytem viróz.

Klíčová slova: Rostlinné viry, cukrová řepa, tykvovitá zelenina, plevelné rostliny, ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Occurrence of viruses in cucurbitaceous vegetable and sugar beet stands and their epidemiology

Summary

Plant viruses are significant pathogens affecting numerous agriculturally important crops. This bachelor's thesis focused on sugar beet viruses, particularly those responsible for causing virus yellows disease, namely beet yellows virus (BYV), beet mild yellowing virus (BMYV), and beet chlorosis virus (BChV). The thesis described the symptomatology, epidemiology, and the impact of these viruses on yield and quality of sugar beet.

Another aspect of this work involved viruses affecting cucurbit vegetables. The symptomatology and epidemiology of zucchini mosaic virus (ZYMV), cucumber mosaic virus (CMV), watermelon mosaic virus (WMV), and other lesser-known cucurbit virus pathogens were described. Additionally, potential sources of plant viral infections from wild and weed plants were discussed.

In the experimental part of this thesis, samples of cucurbit vegetables from various locations in the Central Bohemian and Ústí nad Labem Regions were tested using the ELISA diagnostic method to detect selected viral pathogens. The aim was to determine their current prevalence and compare the results with data from the first decade of the millennium. Out of the 158 samples tested, 61.39 % tested positive for ZYMV, 43.67 % for CMV, and 72.15 % for WMV. Additionally, less common and yet in the Czech Republic undescribed viruses were detected during the testing process.

The ELISA method was also used to test samples of weed plants collected from areas surrounding fields where cucurbit vegetables with a high incidence of viruses were grown during previous growing season.

Keywords: Plant viruses, sugar beet, cucurbit vegetables, weed plants, ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Obsah

1 Úvod	8
2 Cíle práce	9
3 Literární rešerše	10
3.1 Cukrová řepa	10
3.1.1 Význam v ČR a ve světě	10
3.1.2 Požadavky na stanoviště.....	10
3.1.3 Výživa	11
3.1.4 Osevní postup	12
3.1.5 Příprava půdy a agrotechnika	12
3.1.6 Založení porostu	13
3.1.7 Ošetření porostu během vegetace	14
3.1.8 Vybrané choroby a škůdci cukrové řepy.....	14
3.1.9 Regulace chorob a škůdců v porostech cukrové řepy	15
3.2 Tykvovitá zelenina	16
3.2.1 Nutriční význam	16
3.2.2 Pěstování tykvovité zeleniny ve světě a v ČR	16
3.2.3 Požadavky na stanoviště.....	17
3.2.4 Výživa	17
3.2.5 Pěstební postupy	18
3.2.6	18
3.2.7 Vybrané choroby a škůdci tykvovité zeleniny	18
3.3 Rostlinné viry	19
3.3.1 Základní stavba virové částice	19
3.3.2 Vstup do rostliny, přenos a šíření viru	19
3.3.3 Distribuce viru v rostlině.....	20
3.3.4 Ochrana proti virovým chorobám rostlin	21
3.4 Vybrané virové patogeny cukrové řepy	21
3.4.1 Virus žloutenky řepy (beet yellows virus, BYV)	21
3.4.2 Virus mírného žloutnutí řepy (beet mild yellowing virus, BMYV)	22
3.4.3 Virus chlorózy řepy (beet chlorosis virus, BChV)	22
3.4.4 Virus mozaiky řepy (beet mosaic virus, BtMV).....	22
3.4.5 Virus nekrotického žloutnutí žilek řepy (beet necrotic yellow vein virus, BNYVV)	23
3.4.6 Virus kadeřavosti řepy (beet leaf curl virus, BLCV).....	24
3.5 Vybrané virové patogeny tykvovité zeleniny	24
3.5.1 Virus žluté mozaiky cukety (zucchini yellow mosaic virus, ZYMV)	24

3.5.2	Virus mozaiky vodního melounu (watermelon mosaic virus, WMV)	25
3.5.3	Virus mozaiky okurky (cucumber mosaic virus, CMV).....	25
3.5.4	Virus žloutnutí okurky přenášený mšicemi (cucurbit aphid-borne yellows virus, CABYV) 26	
3.5.5	Virus marocké mozaiky vodního melounu (moroccan watermelon mosaic virus, MWMV) 26	
3.5.6	Virus mozaiky tykve (squash mosaic virus, SqMV)	27
3.5.7	Virus bronzovitosti rajčete (tomato spotted wilt virus, TSWV).....	27
4	Materiál a metody	28
4.1	Odběr vzorků.....	28
4.2	Biologický materiál	28
4.3	Testování.....	28
4.4	Použité diagnostické metody	29
4.4.1	Sérologické testy	29
4.4.2	Molekulárně genetické testy	32
5	Výsledky	35
5.1	Výsledky testování pomocí sérologických metod	35
5.1.1	Cukrová řepa	35
5.1.2	Tykvovitá zelenina.....	35
5.1.3	Plevelné rostliny.....	41
5.2	Výsledky testování pomocí molekulárně genetických metod	41
6	Diskuze	42
7	Závěr	45
8	Literatura	46
9	Seznam použitých zkratek a symbolů	51

1 Úvod

Cukrová řepa je tradiční a významnou plodinou v české zemědělské produkci, která poskytuje vysoké výnosy a umožňuje České republice dlouhodobou soběstačnost ve výrobě cukru, což hraje důležitou roli v exportu této komodity v rámci Evropské unie. Ve světovém měřítku je cukrová řepa také považována za jednu z nejvýznamnějších plodin (Švachula & Pulkrábek, 2020). Jedná se o plodinu náročnou s nízkou konkurenční schopností, která vyžaduje specifická pěstební opatření (Křen et al., 2015; Hammerová et al., 2016).

Tykvovitá zelenina se celosvětově těší oblibě a je důležitou součástí lidské stravy i přes nižší nutriční hodnotu plodů (McCreight, 2016). Navzdory poklesu pěstební plochy zeleniny v České republice roste v posledních letech poptávka po méně tradičních zeleninových druzích produkovaných tuzemskými pěstiteli, mezi kterými dominují různé druhy tykví, jako je tykev cuketa, tykev muškátová či tykev máslová (MZe, 2022).

Škůdců vyskytujících se v porostech cukrové řepy a tykvovité zeleniny je mnoho, podobně jako patogenů způsobujících závažné choroby. Specifickou skupinou významných rostlinných patogenů jsou viry. Jedná se o nebuněčné vnitrobuněčné parazitické organismy s unikátní životní strategií, jejichž vlastnosti významně limitují možnost jejich regulace (AVČR, 2021).

Cukrová řepa i tykvovitá zelenina jsou napadány celou řadou virů, které mají potenciál významně ovlivnit výnos a kvalitu těchto plodin. Mezi významné virové patogeny cukrové řepy patří virus žloutenky řepy (BYV), virus mírného žloutnutí řepy (BMYV) a virus chlorózy řepy (BChV), které jsou původci onemocnění souhrnně nazvaného virové žloutenky řepy. Nejznámější virové patogeny tykvovité zeleniny jsou virus mozaiky cukety (ZYMV), virus mozaiky okurky (CMV) a virus mozaiky melounu (WMV), avšak tykvovitá zelenina je napadána i jinými, méně známými viry.

Rostlinné viry mají různě rozsáhlá hostitelská spektra, jejichž součástí jsou volně rostoucí, často plevelné rostliny, které mohou sloužit jako potenciální zdroje virové infekce.

2 Cíle práce

Zjistit, které viry jsou v ČR nejčastějšími původci onemocnění virovými žloutenkami cukrové řepy.

Zjistit, které viry se u nás vyskytují na tykvovité zelenině a porovnat současný stav se stavem v první dekádě tohoto tisíciletí.

Zjistit potenciální zdroje virů napadajících tykvovitou zeleninu a cukrovou řepu u nás.

3 Literární rešerše

3.1 Cukrová řepa

Cukrová řepa (*Beta vulgaris* convar. *altissima* var. *saccharifera*) je z botanického pohledu klasifikována do čeledi laskavcovité (*Amaranthaceae*), dříve byla řazena do čeledi merlíkovité (*Chenopodiaceae*). Jako zemědělská plodina je zařazena mezi okopaniny a společně s cukrovou třtinou představuje hlavní zdroj pro výrobu cukru na světě. Produkovaný cukr a vedlejší produkty výrobního procesu jsou cennými surovinami pro potravinářský a fermentační průmysl, dále pro výrobu pohonných látek či bioplynu (Švachula & Pulkrábek, 2020).

3.1.1 Význam v ČR a ve světě

Pěstování cukrové řepy má na území České republiky dlouhodobou tradici. Za počátek rozkvětu jejího pěstování lze považovat 30. léta 19. století, konkrétně rok 1831, kdy byl zprovozněn cukrovar Dobruška v Čechách, který je v provozu dodnes (Pančíková, 2019).

Zejména v první polovině 20. století byla cukrová řepa na území České republiky dominující plodinou. V nynější době je nazývána spíše plodinou speciální, které se věnuje omezený počet pěstitelů. Na druhou stranu však došlo ke značnému zvýšení průměrného hektarového výnosu, a to nejen díky současným výkonným geneticky jednoklíčkovým odrudám, které jsou víceméně tolerantní či rezistentní k některým patogenům a škůdcům, ale i díky zdokonalení pěstitelských technologií. Nadále zůstává nejproduktivnější plodinou mírného zeměpisného pásu, a i ve světě patří mezi nejvýznamnější zemědělské plodiny (Švachula & Pulkrábek, 2020).

Celková pěstební plocha cukrové řepy v České republice se současně pohybuje okolo 60 tisíc hektarů s průměrným ročním výnosem 70 t/ha. Výroba cukru v sedmi českých cukrovních závodech ročně dosahuje průměrné hodnoty 550 tisíc tun, přičemž roční tuzemská spotřeba cukru dosahuje hodnoty 350 tisíc tun. Česká republika je významným exportérem cukru v Evropské unii zásobujícím okolní deficitní státy a je dlouhodobě soběstačná. Česká republika zároveň ve většině sklizňových a výrobních parametrů odpovídá úrovni nejvyspělejších států EU.

Celosvětová produkce cukru v hospodářském roce 2022/23 byla odhadována na 163,1 milionů tun bílého cukru, přičemž největším výrobcem byla Brazílie. Světová spotřeba cukru v tomto období vzrostla na rekordní úroveň 161,9 milionů tun řepného cukru, a to zejména díky nárůstu spotřeby v Číně, Indonésii a Rusku (MZe, 2022).

3.1.2 Požadavky na stanoviště

Cukrová řepa je jednou z nejnáročnějších plodin, jejíž požadavky na pěstební opatření jsou přísně definovány. Jedním z hlavních faktorů tvorby výnosu je zcela jistě vhodné stanoviště. Půda by měla mít optimální strukturu a pórovitost s nízkou objemovou hmotností

a nízkým penetračním odporem (Hammerová et al., 2016). Důležitý je příznivý vodní i vzdušný režim a v neposlední řadě neutrální až slabě alkalická půdní reakce. Černozemě, hnědozemě či fluvizemě představují pro cukrovou řepu ideální půdní typ a kladný efekt na porost má také obsah kvalitního humusu, zejména v prvních fázích růstu. S ohledem na půdní druh jsou vyhovující půdy středně těžké a strukturní. Tyto podmínky nejlépe splňují řepařské výrobní oblasti ideálně se vyskytující v klimatických regionech T3 (teplý, mírně vlhký) nebo T2 (teplý mírně suchý), kde cukrová řepa dosahuje nejvyšších výnosů (Pulkrábek et al., 2007). Nutné je také respektovat faktory erozního ohrožení oblasti při výběru vhodného pozemku a případně při pěstování uplatnit protierozní opatření (UKZÚZ, 2014–2024).

3.1.3 Výživa

Základní předpoklad tvorby příznivých podmínek pro růst a vývoj cukrové řepy je vysoká půdní úrodnost. Příjem a celkový odběr živin rostlinou je do značné míry závislý na půdních a klimatických podmínkách, jelikož cukrová řepa většinu živin přijímá právě z půdní zásoby, nikoli z přímého hnojení. Aby byly zajištěny očekávané výnosy a náležitá kvalita, je třeba regulovat kyselost a obsah živin v půdě (Richter & Škarpa, 2013). U pěstování cukrové řepy je doporučeno se při rozhodování o hnojení nebo o úpravě půdní reakce řídit pravidelným agrochemickým zkoušením půd (Chochola, 2010).

Půdní reakce by měla být upravována k předplodině. Obvykle je využíván dolomitický vápenec nebo dolomit, čímž je současně doplňován i obsah hořčíku v půdě. Obsah fosforu a draslíku je třeba udržovat na úrovni optima, tedy v dobré půdní zásobě, což se projeví příznivým vlivem na růst a vývoj rostlin a technologickou kvalitu sklízených bulev (Richter & Škarpa, 2013).

Aplikace draselných a fosforečných hnojiv je zpravidla prováděna v podzimním období, kdy dochází k jejich zaorávce společně s hnojivy organickými. Při dosažení vyrovnaného obsahu těchto živin finálně o výnosu i kvalitě rozhoduje zejména hnojení dusíkem. Jednotlivé dávky jsou upravovány podle obsahu minerálního dusíku ve svrchní vrstvě půdy. Hnojení dusíkem je prováděno před setím, či při výsevu v jarním období a v případě deficiencie je možné dusíkem přihnojovat během vegetace. Příliš vysoký odběr dusíku cukrovou řepou má zpravidla negativní efekt na cukernatost bulev, která je jedním z hlavních výnosotvorných prvků (Chochola, 2012).

Z mikroprvků je pro cukrovou řepu velmi významný bór. V rostlině se uplatňuje u floémového transportu sacharózy a dalších procesech metabolismu cukrů. Dostatek bóru napomáhá využití vápníku rostlinou a příznivě ovlivňuje příjem fosforu a dalších živin. Nedostatek má zásadní vliv na snížení cukernatosti i výnosu bulev. Bór je nejčastěji aplikován ve formě postřiků, a to nejpozději do poloviny července (Bittner, 2012).

Cukrová řepa patří mezi plodiny, které reagují pozitivně na organické hnojení (Hlisnikovský, 2014). Obecně se působením organických hnojiv v půdě zlepšují fyzikálně-chemické vlastnosti, proces humifikace, retenční schopnost a teplotní režim půdy a také celkové využití použitých minerálních hnojiv porostem. Dále se pozitivní efekt projevuje v podobě vyrovnané vzcházivosti mladých rostlin. Mezi nejkvalitnější organická hnojiva patří

chlévký hnůj, jehož pozitivní působení je možno pozorovat v půdě i pět let po aplikaci (Richter & Škarpa, 2013).

3.1.4 Osevní postup

Pro zařazení cukrové řepy do osevního postupu je třeba dodržovat určitá pravidla a omezení. Vhodnými předplodinami jsou ozimé obilniny, a naopak zcela nevyhovující jsou zejména jetel, vojtěška a kukuřice. Špatnými předplodinami jsou také řepka nebo hořčice, jelikož patří mezi hostitelské rostliny háďátka řepného, či samotná cukrová řepa, zejména kvůli jednostrannému čerpání živin (Pulkrábek et al., 2007). Při pěstování cukrové řepy se v osevním postupu doporučuje dodržovat minimálně čtyřletý odstup. Nevhodný sled plodin se projevuje například zhoršenou vzcházejivostí a jakostí nebo nahromaděním fytopatologických problémů, jako je například zvětšení populací škůdců nebo vyšší infekční tlak rostlinných patogenů (UKZÚZ, 2014–2024).

Při tvorbě osevního postupu je dále třeba brát na vědomí citlivost porostu cukrové řepy vůči některým herbicidům aplikovaným u předchozí plodiny, jako jsou zejména přípravky na bázi sulfonylmočoviny. Podobně platí možnost poškození následné plodiny přípravky použitými v porostu cukrové řepy (Pulkrábek et al., 2007).

3.1.5 Příprava půdy a agrotechnika

Hlavním cílem podzimní přípravy půdy nejen pro cukrovou řepu je upravit a zlepšit půdní strukturu, vodní a vzdušný režim půdy a další fyzikální, chemické i biologické vlastnosti pro nadcházející vegetační období. Kvalitní zpracování půdy je jedním z hlavních faktorů potřebných pro tvorbu výnosu. Současné alternativy podzimní přípravy pro cukrovou řepu vycházejí z orebného i bezorebného systému zpracování půdy.

Mezi klasické metody podzimní přípravy pro cukrovou řepu, které jsou však v dnešní době na ústupu, patří hluboké zpracování půdy založené na orbě. Zpracování půdy do hloubky mezi 20–30 cm je zásadní pro správný rozvoj a růst kořene (Votava & Kumbár, 2014). Orba obecně zajišťuje kvalitní zapravení posklizňových zbytků, zpřístupňuje živiny v organických vazbách a také efektivně potlačuje řadu obtížných plevelů. Na druhé straně je orba vysoce energeticky náročná operace, svoji funkci plní pouze při vyhovující půdní vlhkosti a napomáhá tvorbě zhutnělého podorničí (Hezký, 2021).

Alternativou je již zmíněné bezorebné zpracování půdy, využívající řadu minimalizačních technologií, kde je orba nahrazena hloubkovým kypřením bez obracení ornice. Je to zároveň způsob rychlejší a méně ekonomicky náročný, ale má i svá úskalí, jako je například nekvalitní zapravení posklizňových zbytků. Na území České republiky se bezorebné technologie uplatňují zejména na těžkých půdách, kde je energetická náročnost orby extrémní.

Jak již bylo uvedeno, cukrová řepa potřebuje hluboce zpracovanou půdu pro svůj správný vývoj a příliš mělké kypření negativně ovlivňuje výnosy, způsobuje větvení a deformaci kořenů a snižuje vzcházejivost porostu. Z těchto důvodů jsou stále hledány nové možnosti v přípravě půdy, které by zároveň vyhovovaly plodině i legislativním normám (Chochola, 2010).

Kvalitně provedená podzimní příprava snižuje počet zásahů do půdy v jarním období, které se provádějí v rámci předseťové přípravy. Proto je důležitou součástí podzimního zpracování urovnání půdního povrchu, které umožní mělké provedení předseťové přípravy. To je důležité pro dosažení vysoké polní vzcházejivosti osiva cukrovky a šetření půdní vlhkosti, která infiltrovala do půdy v zimním období (Hezký, 2021).

Hlavními úkoly jarní přípravy je dokonalé urovnání povrchu pozemku, rychlé prohřátí půdy a vytvoření kvalitního seťového lůžka v hloubce výsevu, tedy 3–4 cm, což vede k založení vyrovnaného porostu a omezení vzniku ztrát mezerovitostí (Winkler, 2022). Dále by měla jarní příprava zajistit optimální vzlínavost vody k osivu a vytvořit dostatečnou izolační svrchní vrstvu nakypřené zeminy a tím zabránit neefektivnímu výparu vody. Během jarního zpracování půdy dochází i k ničení časně klíčících a přezimujících plevelů, které by konkurovaly vzcházející řepě. Při rozhodování o provedení jarní přípravy půdy je důležité pracovat obezřetně a co nejvíce zamezit poškození půdní struktury a ztrátám půdní vlhkosti. Tyto kroky vytvářejí ideální podmínky pro správný vývoj a zapojení porostu (Chochola, 2010).

3.1.6 Založení porostu

Cukrová řepa patří mezi plodiny vyznačující se dlouhou vegetační dobou. Doba nutná k dosažení plné technologické zralosti je uváděna v rozmezí 170–210 dnů, tudíž je termín výsevu pro tvorbu výnosu velmi důležitým faktorem. Půdní a atmosférické podmínky, které jsou vhodné pro výsev, se objevují přibližně po 15. březnu, je však možné, že s měnícím se klimatem bude docházet k posouvání agrotechnické lhůty výsevu k ranějším termínům.

Klíčení a vzcházení cukrové řepy je silně závislé na půdní vlhkosti a rozhodující vliv má i teplota půdy. Ta ovlivní zejména rychlost vzcházení, přičemž při vyšších teplotách okolo 15 °C trvá klíčení v průměru pouze čtyři dny, kdežto při nižších teplotách okolo 6 °C se proces klíčení může prodloužit až na 17 dnů. Teplotou půdy i vzduchu je samozřejmě ovlivněn i následný růst mladých rostlin. Velmi nízké teploty a deštivé počasí mohou zapříčinit stagnaci vývoje porostu, a proto časnost výsevu nemusí vždy zajistit dobré výsledky pěstování.

Pro správný průběh procesu syntézy cukru, který je závislý na efektivní fotosyntéze, je klíčové dostatečné olistění rostliny a její dobrá kondice. Správné založení porostu a zajištění ideálních růstových podmínek je proto pro tvorbu výnosu cukrové řepy klíčové (Pavlů & Chochola, 2018).

3.1.7 Ošetření porostu během vegetace

Cukrová řepa je citlivá vůči tvorbě půdního škraloupu, proto je doporučeno po zasetí povrch půdy uválet a po vzejití porostu provést přibližně dvakrát plečkování v meziřadí. Optimálně by tím mělo být dosaženo zkyprění vrchní vrstvy půdy do hloubky 10–15 cm.

Nízká konkurenční schopnost cukrové řepy zejména v první polovině vegetace zapříčiňuje vyšší citlivost vůči zaplevelení. Proto do běžné praxe ošetření během vegetace patří intenzivní regulace dvou i jednoděložných plevelů (Křen et al., 2015).

Vytrvalé plevele by měly být omezovány především v předplodině. Regulace zaplevelení v cukrové řepě patří k nejnáročnějším pěstitelským opatřením, jelikož pro zajištění úspěšného potlačení plevelů je zapotřebí provést několik herbicidních zásahů. Běžná je série tří postemergentních aplikací dělené dávky daného přípravku a v případě vyhovujících vláhových podmínek je možné regulovat vzcházení plevelů i preemergentně, a to aplikací půdních herbicidů po výsevu. Jednotlivé herbicidní dávky jsou pro každý termín voleny podle plevelného spektra a růstové fáze plevelů i plodiny. Je nutné při regulaci dodržovat postupy doporučené výrobcem, jelikož cukrová řepa je vůči herbicidnímu ošetření velmi citlivá (Jursík & Holec, 2016).

3.1.8 Vybrané choroby a škůdci cukrové řepy

Pro vzcházející řepu je nepříznivě významnou chorobou spála řepná, která je obvykle způsobována několika houbovými patogeny z rodu *Pythium*, *Aphanomyces* a *Phoma*. Váha jednotlivých patogenů se mění se změnou půdních podmínek v jarním období. Choroba se projevuje vznikem šedých a černých skvrn na děložních listech, zeslabováním a černáním kořenů, což obvykle vede k odumření celé mladé rostliny. Přeživší jedinci zpravidla výrazně zpomalují růst a vytvářejí nadměrné množství postranních kořenů.

Další z chorob mladého porostu je padání řepných rostlin, způsobováno houbovým patogenem *Fusarium oxysporum*. Příznaky napadení se objevují přibližně ve vývojové fázi 6–12 pravých listů, kdy rostliny po normálním vzcházení začínají vadnout a takzvaně padat. Padání rostlin je způsobeno zaškrcením hypokotylu, který následně neunesse váhu listové růžice, k jejímuž úplnému odlomení může posléze dojít i pouhým působením větru (Chochola, 2010).

Nebezpečnými chorobami cukrové řepy jsou bezesporu listové skvrnitosti, které se zpravidla objevují v pozdější fázi vegetačního období. Na území ČR dominuje cercosporióza nebo také cercosporová listová skvrnitost řepy, jejímž původcem je houbový patogen *Cercospora beticola*. Prvními příznaky napadení jsou kruhové skvrny s šedým středem a hnědými okraji o průměru přibližně 3–5 mm, které se v porostu zpočátku objevují pouze ohniskově. Skvrny se postupně slévají, až dojde k tvorbě větších nekrotických ploch, které se mohou při vlhkém počasí pokrýt povlakem konidií šedavého zbarvení. Starší napadené listy rychle odumírají a patogen se rozšiřuje na listy mladší. Nejmladší listy obvykle napadeny nejsou (UKZÚZ, 2014–2024).

Škůdců cukrové řepy existuje velké množství. Mezi nejznámější hmyzí škůdce patří brouk z čeledi maločlencovití (Cryptophagidae), který na rostlinách způsobuje značné škody okusem ve fázi 2–4 pravých listů. Dospělec maločlence čárkovitého (*Atomaria linearis*) nejprve okusuje klíček, dále mladý kořen, hypokotyl a stonek. Později vykusuje i děložní a srdéčkové listy (Šefrová, 2013).

Dalšími z významných škůdců řepy jsou brouci z čeledi kovaříkovití (Elateridae), jmenovitě například kovařík hnědonohý (*Melanotus brunnipes*), kovařík travní (*Limonius pilosus*), kovařík obilní (*Agriotes lineatus*) či kovařík malý (*Agriotes brevis*). Jejich larvy, lidově přezdíváné drátovci, způsobují značné škody nejen v porostech cukrové řepy. Škodlivost se zpravidla projevuje v raných fázích růstu rostlin, kdy larvy napadají semena a klíčící rostliny a dále v letním období, kdy larvy pronikají do hlubších vrstev půdy a poškozují okusem kořeny.

Známymi škůdci řady plodin jsou brouci z čeledi mandelinkovití (Chrysomelidae), z nichž v porostech cukrové řepy významně škodí zejména dřepčík řepný (*Chaetocnema tibialis*), dřepčík rdesnový (*Chaetocnema concinna*) a dřepčík černý (*Phylotretta atra*). Dospělci poškozují rostliny typickým žírem, kterým vytvářejí v listech řepy otvory o průměru asi 1 mm zvětšující se s postupným růstem rostliny. Důsledkem takového poškození je zasychání a trhání listových pletiv (Tóth et al., 2017).

Významnou skupinou savých škůdců jsou druhy z čeledi mšicovití (Aphididae) patřící do řádu polokřídílí (Hemiptera). V porostech cukrové řepy dominují především mšice broskvoňová (*Myzus persicae*) a mšice maková (*Aphis fabae*). Mšice nejčastěji sají na listech, u kterých se poškození projevuje deformacemi, barevnými změnami či předčasným zasycháním. Největším rizikem je při napadení mšicemi přenos rostlinných virů. Dospělci i nymfy jsou velmi efektivními vektory řady virových patogenů, jako je virus žloutenky řepy, virus mírného žloutnutí řepy, virus mozaiky řepy a dalších (Bouma, 2021). Viry a jimi způsobované choroby cukrové řepy budou popsány podrobněji níže.

3.1.9 Regulace chorob a škůdců v porostech cukrové řepy

Jak již bylo uvedeno, cukrová řepa je citlivá vůči aplikaci pesticidních látek ve formě postřiku. Má však zároveň velmi nízkou autoregulační schopnost a každá ztráta rostliny v důsledku poškození škůdcem či patogenem znamená snížení celkového výnosu. Z toho důvodu je v intenzivní technologii pěstování této plodiny základním ochranným opatřením fungicidní a insekticidní moření osiva. Fungicidní moření chrání vzcházející řepy zejména před původci řepné spály. Moření insekticidní s fumigační a systémovou složkou chrání mladé rostliny v půdě při vzcházení a dále i několik týdnů po vzejití.

Jako efektivní součást moderních mořidel byly doposud používány účinné látky na bázi neonikotinoidů. Jsou to systémové insekticidy selektivní vůči členovcům s velice silným účinkem na nervovou soustavu hmyzu vyznačující se nízkou toxicitou vůči obratlovcům. Do zemědělské praxe byly zavedeny v roce 1991 a velmi rychle se staly nejpoužívanějšími

insekticidy na celém světě, jelikož umožnily substituci přípravků, které představují větší riziko pro člověka i životní prostředí.

V roce 2018 bylo používání neonikotinoidních přípravků v Evropské unii zakázáno, a to kvůli vlivu na necílové organismy. Do roku 2023 byla v České republice a některých dalších státech EU udělována výjimka pro použití v pěstování cukrové řepy, avšak ani to již od roku 2024 nebude možné. Jelikož jsou neonikotinoidní látky na trhu s přípravky pro ochranu rostlin svými vlastnostmi a vysokou efektivitou jedinečné, neexistuje momentálně žádná adekvátní alternativa, pouze přípravky méně účinné. V porostech cukrové řepy lze v důsledku těchto opatření v kombinaci se stále častějšími mírnými zimními teplotami očekávat zvýšený tlak škůdců a patogenů, které jsou jimi přenášeny. Jako konkrétní případ lze uvést mšice přenášející původce virových žloutenek řepy, které od zavedení moření osiva neonikotinoidy nepředstavovaly likvidační hrozbu, jako například v letech 1988 a 1989, kdy na území České republiky způsobily epidemii (Chochola et al., 2024; Dewar & Qi, 2021).

3.2 Tykvovitá zelenina

Čeleď tykvovité (*Cucurbitaceae*) čítá asi 118 rostlinných rodů a přibližně 800 rostlinných druhů. Jedná se převážně o druhy tropické s původem na území Afriky, Jižní Ameriky a Asie. Zemědělsky významné rostliny z této čeledi jsou označovány jako plodová zelenina. Hlavní a nejvíce pěstované plodiny z této skupiny představují okurka (*Cucumis sativus*), meloun cukrový (*Cucumis melo*), meloun vodní (*Citrullus lanatus*) a tykve (*Cucurbita* spp.) (Weng & Sun, 2012).

3.2.1 Nutriční význam

I přesto, že tykvovité plodiny nemají příliš vysokou nutriční hodnotu, zastávají velmi důležitou roli v lidské výživě po celém světě, jelikož obsahují řadu vitaminů, minerálních látek a také významný obsah vody pohybující se v rozmezí 85–95 %. Ze semen některých tykvovitých je možné získávat kvalitní rostlinné oleje, v jejichž složení figurují člověku prospěšné nenasycené mastné kyseliny, jako jsou kyselina linolová či kyselina olejová. Dále některé druhy obsahují v semenech farmaceuticky významné látky, jako je například esenciální aminokyselina L-tryptofan, napomáhající správné funkci nervové soustavy člověka. Všeobecně je tykvovitá zelenina oblíbená zejména pro chutné plody a jejich variabilní potravinářské využití (McCreight, 2016).

3.2.2 Pěstování tykvovité zeleniny ve světě a v ČR

Dle organizace OSN pro výživu a zemědělství (FAO) v roce 2019 celosvětová produkce tykvovitých zahrnovala 100,4 Mt melounů vodních, 87,8 Mt okurek, 27,5 Mt ostatních melounů a 22,9 Mt tykví. Tykvovité plodiny jsou pěstovány ve více než 100 státech světa

s Čínou na prvním místě, která produkuje více než třetinu celosvětové produkce těchto druhů zeleniny. Konkrétně se jedná o 36,7 % světové produkce tykví, 49,1 % melounu cukrového, 60,5 % melounu vodního a 80,1 % okurky (Grumet et al., 2021).

V roce 2022 došlo v České republice ke snížení celkové výměry pěstební plochy zeleniny o 5,5 % na 15 124 ha. K šesti nejvíce pěstovaným druhům zeleniny v tomto roce se zařadily i okurky nakladačky jako zástupci čeledi *Cucurbitaceae* a tvořily 7 % veškeré produkce. U této plodiny byl na rozdíl od jiných zaznamenán nárůst pěstební plochy o 3 %, dosahující hodnoty 1 005 ha a došlo i k navýšení hektarového výnosu, a to až o 9 % na 24,48 t/ha (MZe, 2022).

V posledních letech také došlo v České republice k navýšení celkové spotřeby zeleniny v čerstvé hmotě na obyvatele. Tento nárůst zároveň provází vzrůstající zájem o méně tradiční plodiny, jako jsou mezi jinými i různé druhy tykví (tykev cuketa, tykev hokkaido, tykev muškátová, tykev máslová apod.). Česká republika je silně závislá na dovozu zeleniny, avšak stále narůstá poptávka po této komoditě s českým původem (MZe, 2022).

3.2.3 Požadavky na stanoviště

Rostliny z čeledi *Cucurbitaceae* jsou zpravidla teplomilné, a tak tomu je i u kulturních druhů. Okurky a tykve vyžadují pro klíčení teploty mezi 15–20 °C, teplota půdy pro růst je ideální v rozmezí 18–24 °C a teplota vzduchu mezi 20–30 °C, přičemž teplotní optimum pro okurky se nachází spíše u horní hranice rozmezí a tykve naopak snesou teploty u hranice spodní. Pro zajištění dobré kondice rostlin jsou vhodná bezvětrná stanoviště. Meloun vodní má z tykvovitých plodin požadavky na vyšší teplotu nejvýraznější. Pro klíčení melounu jsou ideální teploty v rozmezí 20–25 °C a nejlépe prosperuje na slunných stanovištích (Petříková et al., 2012).

Půdy pro pěstování tykvovité zeleniny jsou ideální humózní, záhřevné a vzdušné s dobrou vodní jímavostí. Půdní reakce by se měla pohybovat mezi hodnotami pH 6–7,5. Vhodný půdní druh představují půdy hlinité či písčitohlinité s vyšším obsahem organických látek a optimálním půdním typem jsou hnědozemě a černozemě. Naopak nevhodné jsou půdy lehké, písčité a zamokřené (UKZÚZ, 2014–2024).

3.2.4 Výživa

Tykvovitá zelenina je pěstována v první trati, jelikož pozitivně reaguje na organické hnojení. Vhodná je aplikace chlévského hnoje v tří až čtyřletém cyklu, ideálně s podzimní zaorávkou, nebo ji lze nahradit aplikací kompostu, a to na podzim i na jaře. Fosforečná hnojiva mohou být aplikována společně s hnojivy statkovými na podzim, nebo na jaře před výsadbou společně s hnojivy draselnými. Důležitá je aplikace hnojiv hořečnatých, ne však společně s fosforečnými, kvůli riziku tvorby nerozpustných sloučenin. Dusíkatá hnojiva je doporučeno aplikovat především před výsadbou a následně ve formě přihnojení během vegetace.

Přihnojování mikroprvky se osvědčuje ve formě půdní či foliární aplikace boru, manganu, molybdenu a rovněž zinku, na který jsou tykvovitě plodiny náročné. Pro vyrovnaný výživný režim je doporučeno pravidelně provádět agrochemický rozbor půd na obsah živin (Petříková et al., 2012).

V rámci osevního postupu je doporučeno pěstovat tento druh zeleniny s víceletým odstupem, u okurek v délce minimálně čtyř let. Vhodnými předplodinami jsou jeteloviny, obilniny a zelenina mimo čeleď *Cucurbitaceae* (UKZÚZ, 2014–2024).

3.2.5 Pěstební postupy

Založení porostu může probíhat jak z přímého výsevu, tak i z předpěstované sadby, přičemž termín by měl být rozhodován s ohledem na teplotní požadavky rostlin. Obvykle se termín založení porostu uvádí přibližně od konce dubna do poloviny května, při předpěstování sazenic již od konce března. Během vegetace je zásadní rovnoměrná a dostatečná závlaha, avšak přílišné zavlažování zejména melounů v období zrání může snižovat kvalitu a jakost plodů. Při venkovním pěstování tykvovitá zelenina reaguje velmi dobře na mulčování povrchu půdy černou netkanou textilí či nastýlání (Petříková et al., 2012).

Celosvětově existuje celá škála různých způsobů pěstování tykvovité zeleniny, které se mohou v mnoha krocích lišit od výše popsanych postupů, které jsou uplatňovány zejména v podmínkách mírného podnebného pásu. Pěstební technologie mohou být extenzivní s minimálními vstupy, jako tomu je například v pouštních oblastech Indie, kde jsou plodiny zavlažovány pouze monzunovými dešti. Pravým opakem jsou velmi intenzivní technologie s vysoce kontrolovanými pěstebními podmínkami a vstupy jako například ve Španělsku či Holandsku, kde převažuje pěstování pod plastovým či skleněným krytím (McCreight, 2016).

3.2.6

3.2.7 Vybrané choroby a škůdci tykvovité zeleniny

Závažnou houbovou chorobou je plíseň okurky napadající většinu tykvovitých, která je způsobována patogenem *Pseudoperonospora cubensis*. Spory tohoto patogenu se na území České republiky dostávají vzdušnými proudy z oblastí jihovýchodní Evropy a Blízkého východu, kde je tykvovitá zelenina pěstována celoročně. Projevuje se rychle se zvětšujícími žlutými a nekrotizujícími skvrnami na listech a může vést k úhynu celých rostlin.

Škody dále způsobuje padlí tykvovitých, jehož původcem jsou houbové patogeny *Golovinomyces cichoracearum* a *Sphaerotheca fuliginea*. Výskyt padlí podporuje střídavá vzdušná vlhkost a teploty nad 20 °C. Projevuje se typickým moučnatým povlakem, který se nejprve objevuje na starších listových čepelích a způsobuje žloutnutí až nekrózu listů, které velmi rychle odumírají a opadají. Při pokročilé infekci se může rozšířit i na stonky a plody.

Z bakteriálních chorob je nejnámější bakteriální skvrnitost okurky, jejímž původcem je *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*. I přesto, že primárně napadá okurky, může působit

škody na většině tykvovitých plodin. Symptomy se nejprve objevují na listech v podobě malých vodnatých lézí, které se s postupem infekce zvětšují a zasychají. Takto zaschlé ohraničené části pletiva mohou následně vypadávat a listy se mohou jevit jako roztrhané. Posléze celé listy usychají. Na plodech se objevují cirkulární skvrny světlé barvy, které následně propadají a většinou jsou druhotně napadeny dalšími patogeny a podléhají hnilobám (Sharma et al., 2016; Petříková, 2012).

Významným hmyzím škůdcem tykvovité zeleniny je květilka všežravá (*Delia plantura*), jejíž larvy okusují vegetační vrcholy a děložní listy mladých rostlin. Dalšími významnou skupinou škůdců je savý hmyz rodu mšice (*Aphis*), působící škody sáním zejména na listech a přenosem virů, které jsou detailně popsány níže. Škodit může rovněž savý roztoč rodu sviluška (*Tetranychus*), množíci se zpravidla v suchých podmínkách při vyšších teplotách (Petříková, 2012).

3.3 Rostlinné viry

Viry lze obecně definovat jako nebuněčné intracelulární parazitické organismy, které jsou morfologicky, funkčně i ekologicky velice různorodé. Virový životní cyklus je zcela závislý na hostitelské buňce, jejíž proteosyntézu využívají ke své replikaci a po jejímž úhynu nejsou schopny se dále replikovat. Klasifikují se tedy jako obligátní vnitrobuněční parazité. Viry lze základně rozdělit na prokaryotické, živočišné, rostlinné a viry hub. Rostlinné viry využívají jako hostitele buňku rostlinnou a jsou považovány za významné patogeny způsobující značné ekonomické ztráty v produkci řady plodin (Rosypal, 1998).

3.3.1 Základní stavba virové částice

Velikost těchto rostlinných patogenů se podle tvaru částic pohybuje v rozmezí 12–2000 nm. Genetická informace je uložena v DNA nebo RNA, která je obalena proteinem tvořícím takzvanou kapsidu. Z tohoto hlediska lze viry rozdělit na RNA a DNA viry. Většina rostlinných virů obsahuje genetickou informaci ve formě jednovláknové RNA (ssRNA) s obalem tvořeným pouze jedním kapsidovým proteinem, existují však i viry složitější. Rostlinné viry lze z hlediska morfologie virové částice rozlišovat na izometrické, filamentární, tyčinkovité a další (Vaculík, 2015; Rosypal, 1998).

3.3.2 Vstup do rostliny, přenos a šíření viru

Virus musí do rostlinné buňky nejprve vstoupit přes buněčnou stěnu a cytoplazmatickou membránu, a jelikož sám není k překonání těchto bariér uzpůsoben, k průniku do cytoplazmy mu nejčastěji slouží přenašeč neboli vektor. Efektivní virové vektory jsou obvykle zároveň rostlinnými škůdci. Mezi ně se řadí četné druhy hmyzu, jako jsou mšice, křísi, molice a brouci, dále půdní háďátka, roztoči, fytopatogenní houby nebo parazitické rostliny. Vstup některých rostlinných virů do rostlinné buňky může dále umožnit mechanické

poškození, způsobené například pracovním náčiním či povětrnostními podmínkami a následný kontakt mezi rostlinami. Kromě živočišných a rostlinných vektorů mohou k přenosu a dalšímu šíření virové infekce sloužit pylová zrna, semena, rostlinné části v podobě oddenků, hlíz a roubů či půda (Vaculík, 2015; AVČR, 2021).

Přenos viru lze rozlišit dle charakteru interakce mezi virem a jeho vektorem na neperzistentní neboli necirkulativní a perzistentní neboli cirkulativní. Při neperzistentním přenosu dochází k navázání viru nejčastěji v ústním ústrojí vektoru a k nabytí viru neboli akvizici stačí krátká doba sání v řádech několika vteřin až minut. Infekčním se vektor stává ihned po akvizici bez potřebné inkubační periody. Virus se v těle vektoru nešíří ani nereprodukuje a samotný vektor obvykle ztrácí po krátké době infekčnost.

V případě perzistentního přenosu trvá akvizice až několik hodin a následná inkubační doba může být dlouhá až několik týdnů. Virus se v těle vektoru šíří trávicím traktem a buňkami trávicího traktu prostupuje do hemolymfy a dále do slinných žláz, odkud může být opět ústním ústrojím vylučován. Pokud se virus v těle vektoru dále nerozmnožuje, jedná se o přenos perzistentní nepropagativní. Pokud se však virus v těle vektoru reprodukuje, jedná se o přenos perzistentní propagativní. V rámci perzistentního přenosu může virus setrvávat v těle vektoru celý jeho život a u některých virů je pozorována i možnost transovariálního přenosu na potomky. Zvláštní formou je přenos semiperzistentní, který představuje přechodnou formu mezi perzistentním a neperzistentním přenosem. Vektor nabývá virus po delším sání, avšak schopen přenosu je téměř ihned, bez inkubační periody. Infekčnost vektor ztrácí při svlékání (Navrátil, 2011; UKZÚZ, 2014–2024).

V globálním měřítku významně přispívá k šíření nejen virových infekcí mezinárodní obchod s rostlinnými komoditami jako je osivo, sadba, plodiny určené ke konzumaci a další, k jejichž transportu dochází ve velkých objemech napříč světovými kontinenty (AVČR, 2021).

3.3.3 Distribuce viru v rostlině

K mezibuněčnému transportu virových částic či pouze infekční nukleové kyseliny dochází prostřednictvím plazmodezmat. Zásadní roli zde zastávají takzvané transportní proteiny, což jsou virem kódované proteiny, sloužící k modifikaci plazmodezmat a jiných transportních drah hostitele, čímž umožňují samotný transport viru do sousedních buněk.

K šíření virionů na větší vzdálenosti v rostlinném těle velmi efektivně slouží cévní svazky. K transportu zde dochází pasivně s obsahem cévních svazků a vstup či výstup virů z vodivých pletiv je opět zprostředkován specifickými virovými proteiny a proteiny bílkovinného obalu viru.

Samotná distribuce v rostlinném těle je u každého viru variabilní. Některé omezují svůj výskyt pouze na infikovanou buňku či list, jiné se šíří po celé rostlině. U některých virů může být šíření z místa vstupu infekce omezeno na malé zóny, což se poté projevuje lokálními chlorotickými či nekrotickými lézemi. Viry se často nevyskytují v apikálních případně i laterálních meristematických pletivech rostlin (Navrátil, 2011).

3.3.4 Ochrana proti virovým chorobám rostlin

Výše popsané vlastnosti a životní strategie virů znemožňují ochranu proti těmto patogenům ve formě přímých kurativních zásahů. I přesto, že jsou známy účinné virocidní látky neboli antivirotika, jejich plošná aplikace doposud není možná. Tyto látky představují ve vyšších koncentracích výrazné zdravotní riziko nejen pro rostliny, ale i živočichy včetně člověka (AVČR, 2021).

Existují však nepřímé způsoby ochrany, jejichž vhodnou kombinací je možné minimalizovat výskyt a šíření virových chorob a předcházet vzniku epidemií. Mezi taková opatření patří zejména regulace virových vektorů formou insekticidních postřiků či moření osiva, herbicidní regulace rostlinných rezervoárů infekcí, tvorba, distribuce a používání zdravého množitelského materiálu, šlechtění rezistentních či tolerantních odrůd a v neposlední řadě dodržování vhodných agrotechnických a fyto-sanitárních opatření (Jones, 2006).

3.4 Vybrané virové patogeny cukrové řepy

3.4.1 Virus žloutenky řepy (beet yellows virus, BYV)

Beet yellows virus je klasifikován do čeledi *Closteroviridae*, rodu *Closterovirus*. Poprvé byl popsán v roce 1936. Je jedním ze tří hlavních patogenů způsobující žloutenky řepy, které patří mezi nejzákladnějších onemocnění této plodiny. Žloutenkové viry mohou rostlinu infikovat samostatně nebo ve formě smíšené infekce, kde se projeví jejich synergie značným nárůstem škodlivosti.

Hostitelské spektrum BYV je tvořeno přibližně 120 plevelnými i kulturními druhy náležícími do 15 různých čeledí. Z kulturních plodin jsou hostiteli BYV zejména řepa cukrová, červená, krmná a mangold (*Beta vulgaris*), a dále špenát (*Spinacia oleracea*) (Dolja, 2003).

Virus je přenášen mšicemi semi-perzistentním způsobem a za hlavní přenašeče jsou považovány mšice maková a mšice broskvoňová. Virus v těle mšice necirkuluje a svlékáním vektor ztrácí infekčnost. U BYV neexistuje inkubační perioda a mšice je tedy virus schopna okamžitě přenést na další rostlinu, k čemuž stačí sání o délce 7–15 minut. Virus je po akvizičním sání v těle mšice infekční pouze 1–4 dny, proto se patogen nešíří na velké vzdálenosti a v polním porostu se vykytuje ohniskově (Lennefors, 2021).

Symptomy napadení mladých rostlin se mohou projevit pouze chlorotickým zbarvením žilnatiny. U listů starších se jako první příznaky objevují světle žluté skvrny v místě průniku infekce, které se obvykle dále rozšiřují a dochází k zežloutnutí celého listu. Listová žilnatina a řapík zůstávají zelené. Později se na listech tvoří tečkovité nekrotické léze a listy jsou zároveň kožovité a křehké. Ke konci letního období se mohou listy zbarvit až do bronzových odstínů (Víchová, 2021).

Onemocnění virovými žloutenkami obvykle vede k omezení intenzity fotosyntézy a často i předčasnému odumírání nejvíce postižených listů. Na to může rostlina cukrové řepy

reagovat obnovením vegetace, čímž se snaží nahradit ztracenou listovou plochu. To dále ovlivní celkový růst rostlin, které tvoří menší bulvy a tím dochází k výraznému snížení výnosu. Dále může docházet k čerpání zásob cukru rostlinou a v důsledku toho k významnému snížení cukernatosti sklizených bulev (Clover et al., 2002; Ryšánek et al., 2021).

3.4.2 Virus mírného žloutnutí řepy (beet mild yellowing virus, BMV)

Tento virus je zařazen do čeledi *Luteoviridae*, rodu *Polerovirus*. Je dalším ze skupiny patogenů způsobujících žloutenku řepy a má podobné hostitelské spektrum jako BYV. Beet mild yellowing virus jako ostatní poleroviry striktně omezuje svůj výskyt v rostlině na floém.

K přenosu BMV dochází mšicemi perzistentním způsobem, avšak virus se v těle mšice nemnoží a není přenosný na potomstvo. Za hlavního přenašeče je považována mšice broskvoňová a na rozdíl od BYV se mezi přenašeče neřadí mšice maková. Díky vysoké mobilitě mšice broskvoňové může v porostu vznikat plošné napadení.

Příznaky infekce se projevují na starších listech, a to difuzními chlorotickými skvrnami mezi žilnatinou. Místy může žluté zbarvení přecházet až do barvy žlutooranžové. Při napadení BMV nedochází k vniknutí nekrotických lézí na listové čepeli jako u BYV, ale napadené listy jsou často sekundárně napadány houbovými patogeny rodu *Alternaria* (Víchová, 2021).

3.4.3 Virus chlorózy řepy (beet chlorosis virus, BChV)

Stejně jako BMV náleží virus chlorózy řepy do čeledi *Luteoviridae*, rodu *Polerovirus*. Je dalším ze skupiny patogenů způsobujících virovou žloutenku řepy. Byl objeven později než oba předchozí viry, a to až v roce 1994, kdy byl výskyt virových žloutenek řepy na území České republiky velmi řídký.

Má velmi podobné vlastnosti jako BMV, liší se však lehce rozdílným hostitelským okruhem. Přenášen je stejným spektrem vektorů jako BMV a také stejným způsobem (Maňasová, 2023).

Příznakem napadení je žloutnutí mezi listovou žilnatinou, avšak žloutnutí je obvykle mírnější, než při napadení BYV a BMV. Jelikož je velmi častá smíšená infekce těchto tří virů, je složité je rozlišit pouze na základě symptomatologie. Výskyt a rozšíření BChV v České republice nejsou zatím zcela prozkoumány. To může být způsobeno faktem, že virové žloutenky řepy nebyly po dvě dekády předmětem žádného výzkumu (Ryšánek et al., 2021; Lennefors, 2021).

3.4.4 Virus mozaiky řepy (beet mosaic virus, BtMV)

Beet mosaic virus je klasifikován do čeledi *Potyviriidae*, rodu *Potyvirus*. Hostitelský okruh tohoto viru opět zahrnuje z kulturních plodin cukrovou, červenou a krmnou řepu, mangold (*Beta vulgaris*), špenát (*Spinacia oleracea*) a dále některé plevelné rostliny z čeledí *Amaranthaceae*, *Brassicaceae*, *Fabaceae* a *Asteraceae* (Víchová, 2021).

Virus je přenosný neperzistentním způsobem a za hlavní přenašeče jsou považovány mšice broskvoňová a mšice maková a byl pozorován i přenos mechanický (Ryšánek et al., 2021).

Symptomy virové mozaiky řepy se nejčastěji objevují na srdéčkových listech, a to zesvětlením žilnatiny. Dále se na listových čepelích zpravidla tvoří drobné světle zelené, případně až bělavé chlorotické skvrny. Počet těchto skvrn postupně roste, dochází ke střídání světlých a tmavších skvrn a vytváří se charakteristická mozaika. Infikované části listu se vyvíjejí pomaleji a tím dochází k vzniku kadeření a puchýřovitosti listů. Virus má dále vliv na snižování výnosu a cukernatosti cukrové řepy (Bittner, 2012).

3.4.5 Virus nekrotického žloutnutí žilek řepy (beet necrotic yellow vein virus, BNYSV)

BNYSV je klasifikován do čeledi *Benyviridae*, rodu *Benyvirus* a je původcem nebezpečné choroby s názvem rizománie.

Virus napadá kulturní rostliny rodu *Beta* a *Spinacia*. Mezi hostitelské rostliny patří i některé plevelné druhy, jako například kokoška pastuší tobolka (*Capsella bursa-pastoris*), svlačec rolní (*Convolvulus arvensis*), heřmánkovec nevonný (*Matricaria inodora*) a další. Onemocnění je rozšířeno ve většině evropských zemí i na jiných kontinentech. Na území České republiky byl výskyt poprvé zaznamenán v roce 1982 (Bittner, 2012).

Vektorem viru je půdní parazitický organismus *Polymyxa betae*, patřící do živočišné říše prvoci (Protozoa), oddělení Plasmodiophoromycota. Vektor napadá zejména kořenové vlášení a drobné kořeny hostitelských rostlin. Virus je přenášen perzistentním způsobem pomocí pohyblivých zoospor a v takzvaných trvalých sporách může v půdě přetrvávat 15–20 let (Víchová, 2021).

Samotné příznaky infekce se obvykle objevují přibližně od června, což odpovídá skutečnosti, že *Polymyxa betae* potřebuje k množení teploty půdy mezi 20–25 °C. Typickým úkazem je chloróza a žloutnutí listů napadených rostlin tvořících v porostu ohniska nebo pásy. Na silně napadených rostlinách lze pozorovat žloutnutí a nekrózu žilnatiny. Charakteristické symptomy se objevují na kořenové části rostliny, kde dochází k nadměrné tvorbě rychle odumírajících postranních kořínků na kořenu hlavním. Tyto zmnožené kořínky vyrůstají po celém obvodu hlavního kořene a tvoří takzvaně vousatou bulvu. Na průřezu bulvou lze pozorovat tmavé cévní svazky (Pulkrábek et al., 2007).

Důsledky onemocnění rizománií jsou velmi závažné. Na zamořeném poli může u náchylných odrůd dojít k snížení cukernatosti až o 80 % a výnosu až o 60 %. Naštěstí se podařilo proti tomuto onemocnění úspěšně zakročit, a to šlechtěním nových rezistentních odrůd, které se staly jediným řešením. V dnešní době je pěstování cukrové řepy bez rezistentních odrůd prakticky vyloučeno (Chochola, 2010).

3.4.6 Virus kadeřavosti řepy (beet leaf curl virus, BLCV)

Virus je původcem choroby zvané kadeřavost řepy a klasifikován je do čeledi *Rhabdoviridae*.

Hostitelský okruh tohoto viru je poměrně omezený. Z kulturních plodin patřících do čeledi *Chenopodiaceae* napadá zejména rod *Beta* a *Spinacia* a dále plevelné rostliny rodu *Atriplex* a *Chenopodium* (Víchová, 2021).

Jediným známým vektorem viru je ploštice síťenka řepná (*Parapiesma quadratum*) z čeledi síťenkovití (Piesmatidae). Přenos BLCV probíhá perzistentním propagativním způsobem s akvizicí dlouhou přibližně 30 minut a inkubační periodou v rozmezí 7–35 dní. Vektor si zachovává infekčnost po celý život, avšak virus není přenosný na potomstvo a neexistují žádné informace o možnosti přenosu infekce semeny či pylovými zrny.

Symptomy infekce u cukrové řepy se projevují zesvětlením žilnatiny nejmladších listů následované listovými deformacemi a ohybem listů směrem do středu listové růžice. Nakažené rostliny mohou svým vzhledem připomínat hlávky salátu. Rostliny jsou zakrslé a kořeny předčasně zastavují růst. Infekce může mít potenciálně zásadní dopad na snížení cukernatosti a celkového výnosu bulev (EFSA, 2014).

3.5 Vybrané virové patogeny tykvovité zeleniny

3.5.1 Virus žluté mozaiky cukety (zucchini yellow mosaic virus, ZYMV)

Zucchini yellow mosaic virus je vláknitý virus z čeledi *Potyviridae*, rod *Potyvirus*, napadající většinu druhů čeledi *Cucurbitaceae* a dále některé rostliny plevelné. Tento virus byl poprvé izolován v roce 1973 v Itálii a následně popsán v roce 1981. V České republice byl poprvé výskyt ZYMV zaznamenán v roce 1991 a první epidemie viru na českém území byla evidována v roce 1997. ZYMV je jedním z nejvýznamnějších virů tykvovité zeleniny, způsobující značné snížení výnosu a ekonomické ztráty. Rozšířen je celosvětově a objevuje se v tropickém, subtropickém i mírném klimatu.

Jako hostitelské organismy sloužící k přezimování ZYMV figurují na území České republiky dvouleté a víceleté plevelné rostliny. Za hostitele můžeme označit například heřmánkovec přímořský (*Matricaria maritima*), jetel plazivý (*Trifolium repens*) nebo ptačinec žabinec (*Stellaria media*). Obvykle se jedná o rostliny vyskytující se na okrajích pěstebních pozemků, kde se nákaza v blízké minulosti vyskytla.

Nejvýznamnějšími vektory viru jsou mšice, kterými je přenášen neperzistentním způsobem. Virus se v těle mšice nemnoží a samotné mšice ztrácí po několika hodinách infekčnost. K přenosu stačí krátké sání vektoru. Virus je snadno přenášen také mechanicky. Šíření semeny či půdou nebylo doposud uspokojivě prokázáno.

Důsledky napadení ZYMV jsou obvykle závažné. Mezi hlavní symptomy patří tvorba listové mozaiky, žloutnutí a deformace listů, celková zakrslost rostlin a dále deformace a abnormální zbarvení plodů. U plodů napadených rostlin dochází k značnému snížení jakosti

a tím pádem k znemožnění jakékoli další distribuce. Manifestace symptomů se může u jednotlivých druhů lišit (Desbiez & Lecoq, 1997; Šlosár & Ferusová, 2009).

3.5.2 Virus mozaiky vodního melounu (watermelon mosaic virus, WMV)

Watermelon mosaic virus je dalším zástupcem čeledi *Potyviridae*, rod *Potyvirus*. Stejně jako ZYMV je virus mozaiky vodního melounu jedním z nejvýznamnějších virů tykvovitě zeleniny. V České republice byl výskyt WMV poprvé zaznamenán v roce 2011.

Na rozdíl od ZYMV, který má více omezený hostitelský okruh, WMV napadá až 170 plevelných rostlin a kulturních plodin patřících do 27 čeledí. Konkrétními příklady jsou plevelné druhy z čeledi slézovité (*Malvaceae*) a merlíkovité (*Chenopodiaceae*), dále plevelné luskoviny, kulturní hrách a některé okrasné rostliny (Lecoq & Desbiez, 2008; Ben Mansour et al., 2023).

K přenosu viru na rostliny dochází nejčastěji prostřednictvím mšic, a to neperzistentním způsobem. Virus je zároveň přenosný i mechanicky.

Symptomy infekce se mohou lišit v závislosti na jednotlivém rostlinném druhu. K hlavním příznakům patří listová mozaika a strakatost, deformace listů, promáčkliny a mramorování plodů. Napadení WMV významně snižuje kvalitu i výnos tykvovitých plodin (UKZÚZ, 2014–2024).

3.5.3 Virus mozaiky okurky (cucumber mosaic virus, CMV)

Cucumber mosaic virus je klasifikován jako zástupce čeledi *Bromoviridae*, rodu *Cucumovirus*. Poprvé byl CMV určen v roce 1916 jako původce onemocnění okurek a melounu cukrového ve státech Michigan a New York. Rozšířen je po celém světě s převážným výskytem v oblastech mírného pásu. Stále častěji se CMV objevuje i v tropických podmínkách (Palukaitis et al., 1992).

Virus mozaiky okurky má nejpočetnější hostitelské spektrum ze všech rostlinných virů. V roce 1991 bylo evidováno 1241 hostitelských druhů patřících do 101 rostlinných čeledí a od té doby počet vzrostl. I proto je CMV používán jako model pro zkoumání interakcí mezi viry a rostlinami. V České republice virus napadá řadu významných plodin z čeledí *Cucurbitaceae*, *Solanaceae*, *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Amaranthaceae* a zpozorován byl i na okrasných rostlinách z čeledi *Amaryllidaceae* a některých plevelných rostlinách (Jacquemon, 2012; UKZÚZ, 2014–2024).

Virus je přenášen mšicemi neperzistentním způsobem. Hlavní přenašeče tohoto viru představuje přes 80 druhů mšic, přičemž mšice bavlníková (*Aphis gossypii*) a mšice broskvoňová jsou nejúčinnějšími a nejstudovanějšími vektory. Přenos CMV semeny byl zpozorován u více rostlinných druhů s účinností pohybující se mezi 1–50 %. Virus může být přítomen v semenném embryu, endospermu, v pylových zrnech a přenosný je i mechanicky.

Napadení se projevuje světle až tmavě zelenou listovou mozaikou, celkovou chlorózou, zakrnělostí, nitkovitostí listů, lokálními chlorotickými či nekrotickými lézemi,

opadem květů a plodů, které jsou často nevyvinuté, deformované a mohou se na jejich povrchu vytvářet chlorotické a nekrotické pruhy. Symptomy jsou značně variabilní a pro CMV nespecifické (Garcia-Arenal & Palukaitis, 2008).

3.5.4 Virus žloutnutí okurky přenášený mšicemi (cucurbit aphid-borne yellows virus, CABYV)

Cucurbit aphid-borne yellows virus je rostlinným virem z čeledi *Luteoviridae*, rodu *Polerovirus*. Poprvé byl popsán a pojmenován v roce 1992 ve Francii (Lecoq et al., 1992).

Kromě tykvovitě zeleniny patří mezi známé kulturní hostitele tohoto viru například salát (*Lactuca sativa*) či řepa (*Beta vulgaris*) a dále některé druhy plevelných rostlin, konkrétně například hluchavka objímavá (*Lamium applexicaule*), kokoška pastuší tobolka (*Capsella bursa-pastoris*) a starček obecný (*Senecio vulgaris*) (Kassem, 2007; Mnari-Hattab et al., 2009).

Virus je přenášen mšicemi perzistentním způsobem, ale v těle mšice se dále nemnoží a není přenášen na potomstvo. CABYV v rostlinném těle omezuje svůj výskyt na floém. Nejčastějším vektorem je mšice bavlníková a dále tento virus přenáší i kyjatka zahradní (*Macrosiphum euphorbiae*) a mšice broskvoňová, avšak s daleko menší účinností. Mechanicky virus přenášen není a přenos osivem nebyl zaznamenán.

Nákaza CABYV se projevuje žloutnutím starších listů a později celých napadených rostlin. Mezi další symptomy patří ztlustění listů, intervenózní chloróza listů nebo přítomnost žlutých skvrn. Listy napadených rostlin mohou vykazovat kožovitost a křehkost. Příznaky se obvykle neobjevují na plodech a CABYV zpravidla neovlivňuje jakost a kvalitu plodů. Faktorem, kterým značně ovlivňuje výnos, je opad květů infikovaných rostlin, čímž buď eliminuje tvorbu plodů nebo způsobuje tvorbu malého množství přerostlých plodů se sníženou trvanlivostí. Příznaky nejsou příliš specifické a často mohou být zaměňovány (Poláková, 2023).

3.5.5 Virus marocké mozaiky vodního melounu (moroccan watermelon mosaic virus, MWMV)

MWMV je dalším zástupcem čeledi *Potyviriidae*, rodu *Potyvirus* a byl poprvé objeven v roce 1972 v Maroku.

Tento virus má poměrně úzký hostitelský okruh, ve kterém dominují tykvovitě plodiny. Napadené rostliny vykazují výraznou mozaiku, tvorbu tmavě zelených puchýřů na listech, deformace listů a plodů či nekrózu, která může vést k celkovému odumření rostliny.

Virus je přenášen mšicemi neperzistentním způsobem a přenos semeny nebyl zaznamenán (Chatzivassiliou et al., 2016; Lecoq et al., 2001).

3.5.6 Virus mozaiky tykve (squash mosaic virus, SqMV)

SqMV je klasifikován do čeledi *Secoviridae*, rodu *Comovirus*. Tento patogen byl pravděpodobně poprvé popsán v roce 1916 a v České republice byl poprvé popsán v roce 2010 (Nelson & Knuhtsen, 1973; Svoboda & Leisová-Svobodová, 2011).

Hostitelský okruh zahrnuje většinu tykvovitých rostlin a některé druhy z čeledi *Chenopodiaceae*.

Vektory viru představuje několik druhů brouků, jmenovitě jsou to *Acalymma vittatum* a *Diabrotica undecimpunctata* z čeledi mandelinkovití (Chrysomelidae), kteří jsou rozšířeni v Severní Americe nebo *Epilachna chrysomelina* z čeledi slunéčkovití (Coccinellidae), který je rozšířen ve Středozeří. Přenos probíhá neperzistentním způsobem. Virus je efektivně přenášen osivem a pravděpodobně se jedná o hlavní způsob jeho šíření na větší vzdálenosti. Tento způsob přenosu byl popsán nejen u rostlin z čeledi *Cucurbitaceae*, ale i u druhů *Chenopodium quinoa* a *Chenopodium murale*. Přenos je možný také mechanicky.

Příznaky infekce SqMV se projevují mozaikou a deformacemi listů i plodů a dalším příznakem může být tmavě zelené zbarvení v okolí žilnatiny (Lecoq & Desbiez, 2012).

3.5.7 Virus bronzovitosti rajčete (tomato spotted wilt virus, TSWV)

TSWV je klasifikován do čeledi *Tospoviridae*, rodu *Tospovirus* a byl poprvé popsán v roce 1915 v Austrálii.

Hostitelské spektrum viru je široké, zahrnuje přibližně 1300 jednoděložných i dvouděložných druhů z více než 80 čeledí, včetně čeledi *Cucurbitaceae*, přičemž nejvyšší počet hostitelů pochází z čeledí *Solanaceae* a *Asteraceae* (UKZÚZ, 2014–2024; Adkins, 2001).

Virus je přenášen hmyzem řádu třásnokřídílí (Thysanoptera) neboli třásněnkami, a to perzistentně-propagativním způsobem, není však přenosný transovariálně. Byl popsán také přenos mechanický (Parrella et al., 2003).

Patogen je po infekci distribuován v celé napadené rostlině, avšak nepravidelně, což může komplikovat jeho detekci. Mezi častými symptomy napadení jsou uváděny nekrotické a chlorotické léze, kresby a tvorba kroužků na listech, nekrózy, červení, hnědnutí a bronzovitost stonků, nekrózy růstových vrcholů, deformace a barevné změny květů, nepravidelné dozrávání a kroužkovitost plodů. Příznaky jsou značně proměnlivé a snadno zaměnitelné s příznaky jiných rostlinných virů či houbových a bakteriálních chorob (UKZÚZ, 2014–2024).

4 Materiál a metody

4.1 Odběr vzorků

Vzorky cukrové řepy pro testování pomocí sérologických metod ELISA byly odebrány dne 14. 6. 2023 z lokality Černuc (okres Kladno, kraj Středočeský) z pokusů Řepářského institutu Semčice a Katedry ochrany rostlin Fakulty agrobiologie, přírodních a potravinových zdrojů v Praze. Jednalo se o odrůdy cukrové řepy s deklarovanou rezistencí vůči žloutenkovým virům a odrůdy náchylné k infekci žloutenkovými viry. Tyto rostliny byly na jaře roku 2023 uměle inokulovány virem BChV pomocí infekčních mšic za účelem zhodnocení vlivu viru na tvorbu výnosu těchto konkrétních odrůd.

Vzorky cukrové řepy pro testování pomocí molekulárně genetické metody RT-PCR byly odebrány dne 24. 11. 2023 z rostlin cukrové řepy ze skleníku Katedry ochrany rostlin FAPPZ (Praha-Suchdol), které byly přivezeny z porostu cukrové řepy v okolí Opavy a byly na jaře roku 2023 uměle inokulovány virem BChV pomocí mšic.

Vzorky tykvovitě zeleniny byly odebrány z pěstebních pozemků soukromých pěstitelů a pozemků ČZU a zároveň testovány v termínu 9. 8. 2023 až 19. 9. 2023. Lokality odběrů byly jmenovitě Semice (okres Nymburk, kraj Středočeský), Okna (okres Litoměřice, kraj Ústecký), Straky (okres Nymburk, kraj Středočeský), Dřisy (okres Mělník, kraj Středočeský) a Praha-Suchdol (Praha).

Vzorky ozimých a víceletých plevelných rostlin byly odebrány počátkem května roku 2023 z lokality Praha-Troja z okolí pěstebních pozemků Demonstrační a výzkumné stanice FAPPZ, kde se v předchozím roce vyskytovaly porosty tykvovitě zeleniny se silným výskytem viróz.

4.2 Biologický materiál

Jako biologický materiál pro testování byly odebírány vždy 1 až 2 listy z jedné rostliny a pro odběr byly použity rostliny vykazující známky virového onemocnění i rostliny asymptomatické. Po odběru byl materiál skladován při 4 °C po dobu maximálně jednoho dne. Vzorky byly následně zpracovány v laboratoři. Nejprve byly jednotlivé vzorky naváženy a v případě, že nebyly použity ihned, byly zabaleny do hliníkové fólie, označeny a uskladněny v laboratorním hlubokomrazicím boxu při teplotě - 80 °C.

4.3 Testování

Testování bylo prováděno za pomoci imunochemické metody ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) a molekulární metody RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction).

Rostliny řepy byly testovány na přítomnost BYV (virus žloutenky řepy) a BChV (virus chlůzy řepy). Rostliny odebírané z venkovních lokalit byly testovány pomocí sérologických metod. Vzorky řepy ze skleníku byly testovány pomocí molekulárně genetických metod.

Tykvovité a plevelné rostliny byly testovány na přítomnost těchto virů: ZYMV (virus žluté mozaiky cukety), WMV (virus mozaiky vodního melounu), CMV (virus mozaiky okurky), CABYV (virus žloutnutí okurky přenášený mšicemi), MWMV (virus marocké mozaiky vodního melounu), ZYFV (virus žluté skvrnitosti cukety) a TSWV (virus bronzovitosti rajčete). Všechny vzorky tykvovitých a plevelných rostlin byly testovány pomocí sérologických metod.

4.4 Použité diagnostické metody

4.4.1 Sérologické testy

Pro některé viry byla použita DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich ELISA) a pro některé TAS-ELISA (Triple Antibody Sandwich ELISA).

Použití rozdílných metod se obvykle řídí aktuální nabídkou ELISA kitů konkrétního dodavatele pro jednotlivé viry. Většina ELISA kitů je dostupná ve formě DAS-ELISA. Používá polyklonálních protilátek, které jsou tvořeny heterogenní směsí imunoglobulinů a mají vysokou schopnost zachycení cílového proteinu. Vyznačují se vyšší celkovou afinitou k antigenu z důvodu rozpoznání více epitopů, avšak tím může často docházet ke křížové reaktivitě.

TAS-ELISA je metodou citlivější, jelikož navíc používá monoklonálních protilátek, které jsou tvořeny pouze jedním imunoglobulinem. Jsou vysoce specifické k jednomu epitopu cílového antigenu a projevuje se u nich nízká křížová reaktivita. TAS-ELISA dále používá univerzálního konjugátu, který je tak použitelný pro detekci více virů. Nevýhodou je obvykle vyšší pořizovací cena a složitější a tím i časově náročnější postup.

DAS-ELISA (DSMZ)

- 1) Specifické protilátky byly rozpuštěny v potahovacím pufru (zásobní roztok IgG byl ředěn potahovacím pufrem dle návodu výrobce). Do každé jamky na mikrotitrační destičce bylo přidáno 100 μ l této směsi.
- 2) Destičky byly zakryty víčkem a inkubovány při teplotě 37 °C po dobu 2–4 hodin.
- 3) Testovaný biologický materiál byl homogenizován s extrakčním pufrem za pomoci třecí misky s tloučkem (doporučené ředění výrobcem kitu bylo 1:20).
- 4) Destičky byly třikrát promyty promývacím pufrem pomocí stříčky.
- 5) 100 μ l homogenizované směsi bylo přidáno do každé jamky na mikrotitrační destičce. Každý vzorek byl pipetován v dupletech. Do předem vyznačených jamek byl napipetován pouze extrakční pufr (slepá kontrola), homogenát z viruprostých rostlin (negativní kontrola) a extrakt z rostlin napadených daným virem (pozitivní kontrola dodaná výrobcem kitu).

- 6) Destičky byly zakryty víčkem a inkubovány přes noc při teplotě 4 °C.
- 7) Následně byly destičky třikrát promyty promývacím pufrem pomocí stříčky.
- 8) Poté byly destičky potaženy 100 µl konjugačního pufru s protilátkami značenými alkalickou fosfatázou (zásobní roztok IgG-AP byl ředěn konjugačním pufrem dle návodu výrobce).
- 9) Destičky byly zakryty víčkem a inkubovány při teplotě 37 °C po dobu 2–4 hodin.
- 10) Destičky byly třikrát promyty promývacím pufrem pomocí stříčky.
- 11) Do každé jamky bylo přidáno 100 µl čerstvě připraveného substrátu rozpuštěného v substrátovém pufru.
- 12) Destičky byly zakryty víčkem a inkubovány při 37 °C po dobu 30-60 minut.
- 13) Výsledky byly vyhodnoceny vizuálně a spektrofotometrickým měřením při vlnové délce 405 nm, přičemž absorbance pod hodnotou 1,00 byla označena jako slabá reakce, mezi hodnotami 1,01– 2,00 jako středně silná reakce a nad 2,01 jako reakce silná. Byl použit přístroj Tecan Sunrise.

TAS-ELISA (DSMZ)

- 1) Specifické protilátky byly rozpuštěny v potahovacím pufru (zásobní roztok IgG byl ředěn potahovacím pufrem dle návodu výrobce). Do každé jamky na mikrotitrační destičce bylo přidáno 100 µl této směsi.
- 2) Destičky byly zakryty víčkem a inkubovány při teplotě 37 °C po dobu 2–4 hodin.
- 3) Destičky byly třikrát promyty promývacím pufrem pomocí stříčky.
- 4) Dále bylo do každé jamky přidáno 100 µl směsi promývacího pufru a 2% odtučněného mléka.
- 5) Následně byly destičky zakryty víčkem a proběhla inkubace při teplotě 37 °C po dobu 30 minut.
- 6) Testovaný biologický materiál byl homogenizován s extrakčním pufrem za pomoci třecí misky s tloučkem (doporučené ředění výrobcem kitu bylo 1:20).
- 7) Následně byly destičky třikrát promyty promývacím pufrem pomocí stříčky.
- 8) 100 µl homogenizované směsi bylo přidáno do každé jamky na mikrotitrační destičce. Každý vzorek byl pipetován v dupletech. Do předem vyznačených jamek byl napipetován pouze extrakční pufr (slepá kontrola), homogenát z viruprostých rostlin (negativní kontrola) a extrakt z rostlin napadených daným virem (pozitivní kontrola).
- 9) Destičky byly zakryty víčkem a proběhla inkubace přes noc při teplotě 4 °C.
- 10) Destičky byly třikrát promyty promývacím pufrem pomocí stříčky.
- 11) Dále bylo do každé jamky přidáno 100 µl konjugačního pufru s protilátkami MAb (zásobní roztok IgG-MAb byl ředěn konjugačním pufrem dle návodu výrobce).
- 12) Následně byly destičky zakryty víčkem a proběhla inkubace při teplotě 37 °C po dobu 2–4 hodin.
- 13) Destičky byly třikrát promyty promývacím pufrem pomocí stříčky.

- 14) Poté byly destičky potaženy 100 μ l konjugačního pufru s protilátkami značenými alkalickou fosfatázou RAM-AP (zásobní roztok IgG-AP byl ředěn konjugačním pufrem dle návodu výrobce).
- 15) Destičky byly zakryty víčkem a proběhla inkubace při teplotě 37 °C po dobu 1 hodiny.
- 16) Destičky byly třikrát promyty promývacím pufrem pomocí stříčky.
- 17) Do každé jamky bylo přidáno 100 μ l čerstvě připraveného substrátu rozpuštěného v substrátovém pufru.
- 18) Destičky byly zakryty víčkem a proběhla inkubace při 37 °C po dobu 30-60 minut.
- 19) Výsledky byly vyhodnoceny vizuálně a spektrofotometrickým měřením při vlnové délce 405 nm, přičemž absorbance pod hodnotou 1,00 byla označena jako slabá reakce, mezi hodnotami 1,01– 2,00 jako středně silná reakce a nad 2,01 jako reakce silná. Byl použit přístroj Tecan Sunrise.

Složení použitých pufců

- 1) Potahovací pufr: níže uvedené složky směsi byly rozpuštěny v 900 ml ddH₂O, následně bylo upraveno pH pomocí HCl na hodnotu 9,6 a objem doplněn na 1000 ml.
 - a. 1,59 Na₂CO₃
 - b. 2,93 g NaHCO₃
 - c. 0,2 g NaN₃
- 2) PBS (phosphate buffered saline): níže uvedené složky směsi byly rozpuštěny v 900 ml ddH₂O, následně bylo upraveno pH pomocí HCl na hodnotu 7,4 a objem doplněn na 1000 ml.
 - a. 8,0 g NaCl
 - b. 0,2 g KH₂PO₄
 - c. 1,15 g Na₂HPO₄
 - d. 0,2 g KCl
 - e. 0,2 g NaN₃
- 3) Promývací pufr (PBST)
 - a. 0,5 ml Tween 20 na 1 l PBS
- 4) Extrakční pufr: hodnota pH byla 7,4.
 - a. PBST
 - b. 2% PVP
- 5) Konjugační pufr
 - a. PBST
 - b. 2% PVP
 - c. 0,2% vaječný albumin
- 6) Substrátový pufr: níže uvedené složky směsi byly rozpuštěny v 600 ml dd H₂O, následně bylo upraveno pH na hodnotu 9,8 pomocí HCl a poté byl objem doplněn na 1000 ml.
 - a. 97 ml DEA

- b. 600 ml ddH₂O
- c. 0,2 NaN₃

4.4.2 Molekulárně genetické testy

Pro molekulárně genetickou diagnostiku byla použita metoda RT-PCR.

Izolace celkové RNA pomocí RiboEx™ Total RNA isolation solution (GeneAII®)

- 1) Byla provedena homogenizace 100 mg biologického materiálu pomocí třecí misky a tekutého dusíku. Poté byl k homogenizovanému vzorku přidán 1 ml RiboEx™ (složení jednotlivých roztoků nebylo výrobcem uvedeno).
- 2) Homogenát byl inkubován po dobu pěti minut při laboratorní teplotě.
- 3) Dále byl vzorek centrifugován (12 000 × g, 10 min, 4 °C). Supernatant byl následně převeden do nové zkumavky.
- 4) Bylo přidáno 0,2 ml chloroformu a vzorek byl po dobu 15 vteřin protřepáván na vortexu.
- 5) Vzorek byl centrifugován (12 000 × g, 15 min, 4 °C). Vodní fáze byla převedena do nové zkumavky.
- 6) Dále bylo přidáno 0,4 ml absolutního isopropanolu a 0,1 ml roztoku soli (0,8M citrát sodný, 1,2M NaCl) a směs byla šetrně promíchána převrácením zkumavky 10krát.
- 7) Směs byla inkubována při laboratorní teplotě po dobu 10 minut.
- 8) Dále byla směs centrifugována (12 000 × g, 10 min, 4 °C) a supernatant byl odstraněn.
- 9) Dále byl přidán 1 ml 75% ethanolu a převrácením zkumavky byla promyta získaná RNA peleta.
- 10) Následně byl vzorek centrifugován (7 500 × g, 5 min, 4 °C). Mikrozkumavka s peletou byla inkubována při laboratorní teplotě po dobu 5 minut.
- 11) RNA byla rozpuštěna v 50 µl sterilní ddH₂O a následovala inkubace v termobloku po dobu 10–15 minut při teplotě 56 °C.
- 12) Čistota a koncentrace získané totální RNA byla spektrofotometricky ověřena. Množství a kvalita celkové RNA byla určena spektrofotometricky na přístroji Nanodrop 2000 (ThermoScientific, USA) při vlnové délce 260 nm, respektive 280 nm ($A_{260} = 1$ koncentrace celkové RNA je 40 µg/ml; kvalita RNA je poměr A_{260}/A_{280} , doporučená hodnota se pohybuje v intervalu 1,6 - 2,0).

Reverzní transkripce

- 1) Syntéza cDNA probíhala v reakčních objemech 25 µl. Nejprve byl připraven premix o objemu 16,25 µl obsahující:
 - a. 12,5 µl sterilní dd H₂O
 - b. 0,5 µl náhodných primerů (zásobní roztok 0,5 µg / µl); finální koncentrace 0,5mM; Roche)
 - c. 1,25 µl dNTP (zásobní roztok 10mM; finální koncentrace 0,5mM; Fermentas)
 - d. 2 µl totální RNA (přibližně 400 µg celkové RNA)

- 2) Vzorek byl inkubován při teplotě 65 °C a poté ponechán 5 minut na ledu.
- 3) K premixu bylo následně přidáno:
 - a. 5 µl 5x First Strand Buffer (finální koncentrace 1x; Invitrogen)
 - b. 2,25 µl sterilní ddH₂O
 - c. 1,0 µl DTT (zásobní roztok 0,1mM; finální koncentrace 4mM; Invitrogen)
 - d. 0,5 µl *M-MuLV Reverse Transcriptase* (zásobní roztok 200 U/ µl; finální koncentrace 40 U/ µl; Fermentas)
- 4) Mikrozkušavka byla ponechána po dobu 10 minut při laboratorní teplotě a poté inkubována při 70 °C po dobu 15 minut.

PCR

- 1) Získaná cDNA byla použita jako templát pro polymerázovou řetězovou reakci (PCR).
- 2) Reakce PCR byla provedena v celkovém objemu 25 µl, který obsahoval:
 - a. 18,05 µl sterilní ddH₂O
 - b. 2,5 µl *10x Dream Taq™ Buffer* (finální koncentrace 1x; Fermentas)
 - c. 0,25 µl každého dNTP (zásobní roztok 10µM; finální koncentrace 0,1mM; Fermentas)
 - d. 0,5 µl reverzního primeru (zásobní roztok 10µM; finální koncentrace 0,2µM) (Tabulka 1)
 - e. 0,5 µl forwardového primeru (zásobní roztok 10µM; finální koncentrace 0,2µM) (Tabulka 1)
 - f. 0,2 µl *Dream Taq™ DNA Polymerase* (zásobní roztok 5 U/µl; finální koncentrace 1 U/µl; Fermentas)
 - g. 3 µl cDNA vzorku
- 3) Pro PCR byl použit termocykler MJ Research PTC 200. Podmínky během amplifikace byly:
 - a. 94 °C po dobu 2 minuty
 - b. 35 cyklů: denaturace při 94 °C po dobu 15 sekund, annealing při X °C (Tabulka 1) po dobu 30 sekund, extenze při 72 °C po dobu 1 minuty, konečná extenze při 72 °C po dobu 7 minut.

Tabulka 1: Přehled primerů použitých při RT-PCR.

Virus	Rod	Název primeru	Sekvence primery 5'-3'	Velikost produktu	Ta (°C)	Autoři
Beet yellows virus	<i>Closterovirus</i>	BYV2a BYV2b	CTATTCGGACCACCCTGCG AGGAGAATACGCTGAACGAGTGAT	652 bp	60	Kundu & Ryšánek, 2004
Beet chlorosis virus	<i>Polerovirus</i>	MpxBC+ MpxBC-	ATGAACTTTGAGATTTGCTTC TGACAGCTTTTTCTGAAGAG	350 bp	50	Hauser et al., 2000

Elektroforetická separace a vizualizace nukleových kyselin

Pro separaci PCR produktů byla využita souprava pro horizontální elektroforézu. Dále byl připraven 1,5% agarózový gel rozpuštěním agarózy v 1× TBE pufru v mikrovlnné troubě. K vizualizaci DNA molekul byl použit etidium bromid v konečné koncentraci 0,5 µg/ml, který byl přidán do rozpuštěné agarózy před ztuhnutím gelu. Poté byly testované DNA vzorky smíchány s nanášecím barvivem 6× *Loading Dye Solution* (Fermentas) v poměru 5:1,5 a nanášeny do gelu. Separace DNA probíhala 1 h při konstantním stejnosměrném napětí 4-6 V/cm. Po ukončení byly fragmenty vizualizovány na UV-transiluminátoru při vlnové délce 260 nm. Fragmenty byly porovnány s hmotnostním standardem *Mass Ruler Low Range* (Fermentas). Výsledné elektroforeogramy byly zdokumentovány automatickým dokumentačním a analytickým Bio-Imaging systémem InGenius (Syngene).

Složení použitých pufrů

- 1) 10× TBE (pH 8,0): Skladován při laboratorní teplotě, sterilizován pomocí autoklávu.
 - a. 890mM Tris-HCl
 - b. 890mM kyselina boritá
 - c. 20mM EDTA

5 Výsledky

5.1 Výsledky testování pomocí sérologických metod

5.1.1 Cukrová řepa

Vzorky cukrové řepy z lokality Černuc (okres Kladno, kraj Středočeský) byly testovány pro zjištění úspěšnosti umělé inokulace rostlin virem chlorózy řepy. Jednalo se konkrétně o dvě Conviso Smart odrůdy Briga a Sonja náchylné k infekci žloutenkovými viry a odrůdu 3K446 s deklarovanou rezistencí vůči žloutenkovým virům. Testováno bylo 40 vzorků, ze kterých 38 vykazovalo pozitivitu na přítomnost BChV. Tímto byla provedená umělá inokulace mšicemi zhodnocena jako úspěšná.

5.1.2 Tykvovitá zelenina

Vzorky z pozemků ČZU (Praha – Suchdol) byly testovány v termínu 9.–10. 8. 2023 na přítomnost ZYMV, WMV, CMV, CABYV, MWMV, ZYFV a TSWV a byly odebírány z rostlin melounu vodního, tykve cukety a tykve velkoplodé (specifické odrůdy nebyly známé). Z 33 vzorků bylo 27 pozitivních na přítomnost ZYMV. Z toho 4 vzorky vykazovaly středně silnou reakci (znázorněno modrou barvou) a 23 vzorků reakci silnou (znázorněno červenou barvou), dále 23 vzorků bylo pozitivních na přítomnost WMV a z toho 3 vzorky vykazovaly středně silnou reakci, 3 vzorky slabou reakci (znázorněno žlutou barvou) a 17 vzorků reakci silnou. Dále 22 vzorků bylo pozitivních na CMV a z toho 1 vzorek vykazoval silnou reakci a 21 vzorků reakci slabou. Vzorky byly negativní na přítomnost SqMV, CABYV i TSWV (viz Tabulka 2).

Tabulka 2: Testování 9.–10. 8. 2023, ČZU, Praha – Suchdol.

Vzorek	ZYMV	WMV	CMV	CABYV	TSWV	SqMV
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						

15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27						
28						
29						
30						
31						
32						
33						
	27/33	23/33	22/33	0/33	0/33	0/33

	Silná reakce
	Střední reakce
	Slabá reakce

Dne 16. 8. 2023 byly testovány vzorky dvou odrůd tykve velkoplodé od dvou soukromých pěstitelů z lokalit Okna (okres Litoměřice, kraj Ústecký). Konkrétně se jednalo o odrůdy Hokaido Hot Summer a Halloween. Z 38 vzorků bylo 37 pozitivních na přítomnost WMV. Z toho 32 vzorků vykazovalo silnou reakci (znázorněno červenou barvou), 3 vzorky středně silnou reakci (znázorněno modrou barvou) a 2 vzorky reakci slabou (znázorněno žlutou barvou), dále 23 vzorků bylo pozitivních na přítomnost ZYMV a z toho 6 vzorků vykazovalo středně silnou reakci, 6 vzorků slabou reakci a 11 vzorků reakci silnou. Dále bylo 30 vzorků pozitivních na přítomnost CMV a z toho 10 vzorků vykazovalo středně silnou reakci a 20 vzorků vykazovalo reakci slabou a 1 vzorek byl pozitivní na přítomnost CABYV a vykazoval středně silnou reakci. Vzorky byly negativní na přítomnost SqMV (viz Tabulka 3).

Tabulka 3: Testování 16. 8. 2023, soukromí pěstitelé, Okna (okres Litoměřice, Ústecký kraj) a Dřísy (okres Mělník, Středočeský kraj).

	WMV	ZYMV	CMV	CABYV	SqMV
1					
2					
3					
4					
5					

6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					
28					
29					
30					
31					
32					
33					
34					
35					
36					
37					
38					
	37/38	23/38	30/38	1/38	0/38

	Silná reakce
	Střední reakce
	Slabá reakce

V termínu 7.–8. 9. 2023 byly testovány vzorky tykve cukety a dvou odrůd tykve velkoplodé (Hokkaido a Halloween) od soukromých pěstitelů z lokalit Straky a Semice (okres Nymburk, kraj Středočeský). Z 59 vzorků bylo 37 pozitivních na přítomnost WMV. Z toho 15 vzorků vykazovalo silnou reakci (znázorněno červenou barvou), 14 vzorků středně silnou reakci (znázorněno modrou barvou) a 8 vzorků vykazovalo reakci slabou (znázorněno žlutou

barvou). Dále bylo 29 vzorků pozitivních na přítomnost ZYMV a z toho 20 vzorků vykazovalo silnou reakci, 7 vzorků středně silnou reakci a 2 vzorky vykazovaly reakci slabou. Dále 14 vzorků bylo pozitivních na přítomnost CMV a z toho 3 vzorky vykazovaly středně silnou reakci a 11 vzorků vykazovalo reakci slabou a dále 8 vzorků bylo pozitivních na přítomnost MWMV, z toho 2 vzorky vykazovaly silnou reakci, 4 vzorky středně silnou reakci a 2 vzorky reakci slabou. Vzorky byly negativní na přítomnost SqMV (viz Tabulka 4).

Tabulka 4: Testování 7.–8. 9. 2023, soukromí pěstitelé, Straky a Semice (okres Nymburk, kraj Středočeský).

	WMV	ZYMV	CMV	MWMV	SqMV
1					
2		Blue			
3	Yellow				
4					
5		Blue			
6		Yellow			
7	Red				
8					
9	Red				
10		Blue			
11	Red	Red	Yellow		
12			Yellow		
13		Red	Yellow		
14		Blue			
15					
16		Red	Yellow		
17					
18					
19		Red	Blue		
20		Red	Yellow		
21					
22	Blue				
23	Yellow				
24	Blue		Yellow		
25	Yellow				
26	Red		Blue		
27	Red		Yellow		
28	Blue				
29					
30	Yellow				
31	Blue		Yellow		

32					
33					
34	Blue				
35	Blue		Blue		
36					
37					
38	Blue		Yellow		
39	Blue		Yellow		
40	Red	Red	Yellow	Yellow	
41	Blue	Yellow			
42	Yellow				
43	Yellow	Blue			
44	Blue	Blue			
45	Red	Red		Yellow	
46	Blue	Red			
47	Red	Red		Blue	
48	Red	Red			
49	Red	Red		Red	
50	Blue	Red		Red	
51	Blue	Red			
52	Red	Red			
53	Red	Blue			
54	Red	Red			
55	Red	Red		Blue	
56	Blue	Red		Blue	
57	Red	Red		Blue	
58	Yellow	Red			
59	Yellow	Red			
	37/59	29/59	14/59	8/59	0/59

Red	Silná reakce
Blue	Střední reakce
Yellow	Slabá reakce

Dne 13. 9. 2023 byly testovány vzorky jedné odrůdy tykve velkoplodé (Hokkaido) od dvou soukromých pěstitelů z lokality Semice (okres Nymburk, kraj Středočeský). Z 28 vzorků bylo 17 pozitivních na přítomnost WMV, z toho 6 vzorků vykazovalo silnou reakci (znázorněno červenou barvou), 6 vzorků vykazovalo středně silnou reakci (znázorněno modrou barvou) a 5 vzorků vykazovalo reakci slabou (znázorněno žlutou barvou). Dále 18 vzorků bylo pozitivních na přítomnost ZYMV, z toho 13 vzorků vykazovalo silnou reakci a 5 vzorků reakci slabou, dále 3 vzorky byly pozitivní na přítomnost CMV a vykazovaly slabou reakci. Na přítomnost MWMV byl 1 vzorek slabě pozitivní a stejně tak byl 1 vzorek slabě pozitivní na přítomnost ZYFV. Vzorky byly negativní na přítomnost SqMV (viz Tabulka 5).

Tabulka 5: Testování 13. 9. 2023, soukromí pěstitelé, Semice (okres Nymburk, kraj Středočeský).

	WMV	ZYMV	CMV	MWMV	ZYFV	SqMV
1						
2	Red	Red				
3	Blue	Yellow	Yellow			
4		Red				
5		Red	Yellow			
6	Yellow					
7	Red	Yellow				
8						
9	Red					
10		Red				
11	Yellow	Red				
12		Red				
13						
14						
15	Red	Yellow	Yellow			
16	Yellow	Yellow				
17	Red					
18	Yellow	Red				
19	Blue					
20	Yellow	Yellow		Yellow	Yellow	
21	Blue					
22	Blue	Red				
23		Red				
24						
25	Blue	Red				
26	Blue	Red				
27		Red				
28	Red	Red				
	17/28	18/28	3/28	1/28	1/28	0/28

Red	Silná reakce
Blue	Střední reakce
Yellow	Slabá reakce

Z celkového počtu 158 testovaných vzorků tykvovité zeleniny byly všechny testovány na přítomnost ZYMV, WMV, CMV a SqMV. Celkem 97 vzorků tedy 61,39 % bylo pozitivních na přítomnost ZYMV, 69 vzorků, tedy 43,67 %, bylo pozitivních na přítomnost CMV a 114 vzorků, tedy 72,15 %, bylo pozitivních na přítomnost WMV. Všech 158 vzorků bylo negativních na přítomnost SqMV.

Pouze 71 z celkového počtu 158 vzorků bylo testováno na přítomnost CABYV z čehož 1 vzorek představující 1,41 % byl pozitivní, dále 87 vzorků bylo testováno na přítomnost MWMV, z čehož 9 vzorků, tedy 10,34 %, bylo pozitivních a 28 vzorků bylo testováno na

přítomnost ZYFV, z čehož byl 1 vzorek představující 3,57 % pozitivní. Dále 33 vzorků bylo testováno na přítomnost TSWV s negativním výsledkem.

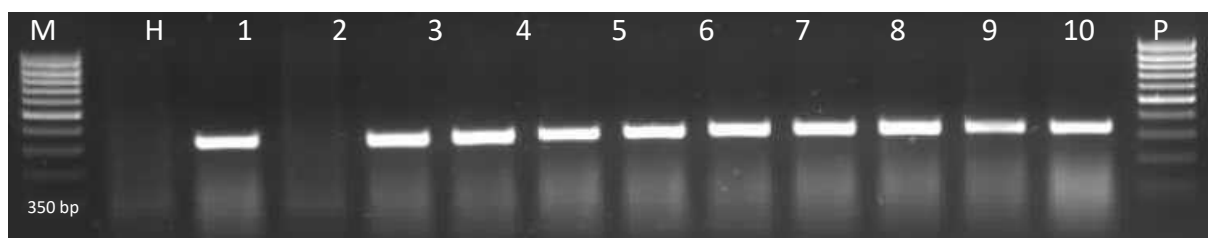
5.1.3 Plevelné rostliny

Dne 10. 8. 2023 bylo testováno 66 plevelných rostlin odebraných počátkem května z okolí pěstebních pozemků Pokusné stanice katedry zahradnictví FAPPZ v Praze-Troji na přítomnost virů WMV, ZYMV, CMV a CABYV. Testovány byly: pupalka rudokališní, turan roční, heřmánkovec přímořský, úročník bolhoj, pcháč oset, locika severní, hulevník lékařský, vikev ptačí, mléč zelinný a jitrocel kopinatý. Všechny 66 vzorků byly negativní.

5.2 Výsledky testování pomocí molekulárně genetických metod

Vzorky cukrové řepy byly testovány dne 24. 11. 2023. Konkrétně byly tyto vzorky odebrány ze tří různých odrůd cukrové řepy, jmenovitě Briga, Viola a 3K504. Vzorky 1–3 představují odrůdu Briga, vzorky 4–6 odrůdu Viola a vzorky 7–10 odrůdu 3K504. Délka PCR produktů pro BChV byla 350 bp a pro BYV 652 bp.

Z výsledků RT-PCR vyplývá, že z 10 vzorků odebraných ze skleníku Katedry ochrany rostlin vyšlo 9 vzorků pozitivních na přítomnost viru chlorózy řepy a u žádného z nich nebyla potvrzena přítomnost viru žloutenky řepy (viz Obrázek 1 a Obrázek 2).



Obrázek 1: **Detekce BChV metodou Two-Step RT-PCR.** Elektroforeogram RT-PCR produktů po separaci na agarózovém gelu. Použité primery MpxBC+/MpxBC-, velikost PCR produktu 350 bp. M: hmotnostní standard Mass ruler low range (Fermentas); H: ddH₂O; 1-10: vzorky z listů testované řepy; P: pozitivní kontrola na přítomnost BChV.



Obrázek 2: **Detekce BYV metodou Two-Step RT-PCR.** Elektroforeogram RT-PCR produktů po separaci na agarózovém gelu. Použité primery BYV2A/BYV2B, velikost PCR produktu 652 bp. M: hmotnostní standard Mass ruler low range (Fermentas); H: ddH₂O; 1-10: vzorky z listů testované řepy; P: pozitivní kontrola na přítomnost BYV.

6 Diskuze

Jedním z cílů této práce bylo zjistit, které viry nejčastěji způsobují onemocnění cukrové řepy virovými žloutenkami. Jak je uvedeno v kapitole 3.4 Vybrané virové patogeny cukrové řepy, hlavní patogeny způsobující toto onemocnění jsou BYV, BMYV a BChV, které se v rostlině mohou vyskytovat samostatně i ve formě směsné infekce. Tím je ovlivňována úroveň škodlivosti onemocnění a vliv na infikovanou rostlinu. Jak je naznačeno v kapitole 3.1.9 Regulace chorob a škůdců v porostech cukrové řepy, virové žloutenky cukrové řepy nepůsobily na území České republiky významné škody od zavedení neonikotinoidního moření osiva, které doposud sloužilo k efektivní regulaci mšic jakožto hlavních vektorů žloutenkových virů. Z tohoto důvodu postupně přestaly být virové žloutenky řepy v praxi považovány za významné choroby a nebyly po určitou dobu předmětem žádného výzkumu. Před zavedením moření osiva neonikotinoidními látkami však byl výskyt virových žloutenek řepy běžný a v určitých případech epidemický s velice významným vlivem na výnosy a ekonomiku cukrové řepy. V návaznosti na zákaz používání neonikotinoidního moření osiva od roku 2024, změnu klimatických podmínek a mírná zimní období lze očekávat, že tlak patogenů virových žloutenek v porostech cukrové řepy bude narůstat.

Součástí tohoto cíle bylo původně zjištění výskytu těchto tří virů v porostech cukrové řepy pomocí diagnostických metod, avšak vzhledem k tomu, že se v roce 2023 virové žloutenky řepy nevyskytovaly, nemohla být tato část splněna. Absence infekcí virovými žloutenkami cukrové řepy může souviset s nižším výskytem a podprůměrnou letovou aktivitou mšic v roce 2023 (Fryč, 2024).

Pro seznámení se s diagnostikou virových patogenů cukrové řepy mi bylo umožněno se zúčastnit laboratorního ověření úspěšně proběhlé umělé inokulace pokusných porostů cukrové řepy virem BChV pomocí mšic. Jak je uvedeno v kapitole 4 Materiál a metody, tento pokus byl prováděn Katedrou ochrany rostlin FAPPZ a předmětem pokusu byly odrůdy cukrové řepy s deklarovanou rezistencí vůči žloutenkovým virům i odrůdy k těmto virům náchylné. Jak může být vidět v kapitole 5.2 Výsledky testování pomocí molekulárně genetických metod, inokulace proběhla úspěšně a přítomnost viru BChV byla ve vzorcích potvrzena sérologickými a molekulárně biologickými metodami. Zajímavým poznatkem z tohoto pokusu je skutečnost, že i v rezistentních odrůdách rostlin může být cílový patogen detekován. Rezistence bývá leckdy chápána jako vlastnost rostliny, která vždy a zcela zabraňuje cílovému patogenu rostlinu infikovat, či se v rostlině jakkoli vyskytovat. Existuje však více druhů rostlinné rezistence a v některých případech se může rezistence projevat pouze potlačením nebo zabrzděním vývoje patogenu v rostlině (Venclová, 2009).

Dalším z cílů této práce bylo zjistit, které viry se vyskytují na území ČR v porostech tykvovitě zeleniny a porovnat aktuální výskyt těchto virů s výskytem v první dekádě tohoto tisíciletí. Pro porovnání aktuálních výsledků uvedených v této bakalářské práci jsem jako hlavní zdroj použila data z výzkumu výskytu virových chorob tykvovitých zelenin v České republice, který byl prováděn v letech 2007–2011 v Čechách i na Moravě pracovníky Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Praze-Ruzyni.

V rámci tohoto výzkumu bylo za celé testovací období odebráno 610 vzorků listů tykvovitých plodin a byly testovány sérologickými i molekulárně genetickými metodami na přítomnost CGMV, CMV, MNSV, PRSV, SqMV, WMV, ZYFV a ZYMV. V každém roce testování byl nejčastěji detekován v porostech tykvovité zeleniny ZYMV, a to s četností 59 % z celkového počtu vzorků. Druhým nejčastěji detekovaným virem v pořadí byl WMV s četností výskytu 15,2 % a třetím v pořadí byl CMV s četností výskytu 11,8 %. Dalšími detekovanými viry byl CABYV s četností výskytu 2,5 % a SqMV s četností 0,3 %. Virus CABYV byl v rámci tohoto výzkumu

v roce 2009 evidován na jižní Moravě jako vůbec poprvé v České republice.

Těchto pět nejčastěji detekovaných virových patogenů se v letech 2007–2011 většinou vyskytovalo na Moravě, a to zejména v Jihomoravském, Zlínském a Olomouckém kraji, méně v kraji Moravskoslezském. V Čechách byly detekovány pouze ZYMV, WMV a CMV, a to ve Středočeském kraji a méně v kraji Ústeckém a Jihočeském. WMV byl detekován pouze v Ústeckém kraji (Svoboda, 2012).

Testování provedené v roce 2023 v rámci této práce bylo prováděno se vzorky pocházejícími pouze z Čech, konkrétně ze Středočeského a Ústeckého kraje. Nejčastěji detekovaným virem z celkového počtu 158 vzorků byl WMV s četností 72,15 %, až druhý nejčastější v pořadí byl ZYMV s četností 61,39 % a třetí stejně jako v letech 2007–2011 byl CMV s četností výskytu 43,67 %. Dále v letech 2007–2011 byl detekován WMV v Ústeckém kraji, avšak v roce 2023 byl navíc zjištěn i v kraji Středočeském v okrese Nymburk a v Hlavním městě Praha. Vzorky z Ústeckého kraje vykazovaly vyšší pozitivitu na přítomnost WMV (97 %) než vzorky odebrané v Praze (69,77 %) nebo v okrese Nymburk (62,07 %).

V roce 2023 byl ve Středočeském kraji v okrese Nymburk dále detekován MWMV v 9 z 87 testovaných vzorků tedy s četností 10,34 %. Tento virus nebyl v České republice doposud popsán a v letech 2007–2007 nebyl tento virus v testování zahrnut.

Dále v roce 2023 byl v Čechách, konkrétně v Ústeckém kraji, detekován v 1 vzorku ze 71 testovaných tedy s četností výskytu 1,41 % CABYV, který se v letech 2007–2011 na území Čech neobjevil, byl však detekován v oblasti Jihomoravského a Olomouckého kraje. Podobně byl v 1 vzorku z 28 testovaných tedy s četností 3,57 % ve Středočeském kraji detekován ZYFV, který v letech 2007–2011 detekován nebyl. Vzorky obou virů vykazovaly při testování slabou reakci, což mohlo být způsobeno například pozdní infekcí.

V roce 2023 nebyl ve Středočeském ani Ústeckém kraji detekován SqMV stejně jako v letech 2007–2011, kdy byl detekován pouze v oblasti Jihomoravského kraje. Na počátku testování tykvovitých rostlin na KOR v letech 2019 a 2020 byl však tento virus ve značném procentu rostlin nacházen (Ryšánek, osobní sdělení). Je možné, že v té době se vyskytoval v dováženém osivu, zatímco v posledních letech (2022–2023) si už dovozci osiva na jeho kvalitu dali větší pozor. Dalším testovaným virem v roce 2023 byl TSWV, který nebyl detekován. TSWV však byl testován pouze u rostlin odebraných na pozemcích ČZU, kde by se mohl vzhledem k druhové pestrosti na pokusných plochách vyskytovat.

Z výsledků z testování v letech 2007–2011 bylo vypořádáno, že se stoupající zeměpisnou šířkou klesal obecný výskyt virů v porostech tykvovité zeleniny a výskyt virů

tykvovitých rostlin se soustředil zejména do oblasti jižní Moravy (Svoboda 2012). V roce 2023 lze pozorovat další rozšíření těchto virů v oblasti středních Čech, nejvíce pak u WMV, který byl detekován nejčastěji a na každé lokalitě. Je tedy pravděpodobné, že vznikají stále vhodnější podmínky pro přezimování virů tykvovitých rostlin v České republice a dochází k dalšímu posouvání hranic výskytu těchto virových patogenů i k šíření virů, které doposud nebyly předmětem monitorování.

Dále bylo cílem této práce zjistit potenciální zdroje virových patogenů tykvovité zeleniny a cukrové řepy. Řada plevelných rostlin může být infikována rostlinnými viry napadající tykvovité plodiny a sloužit tak jako zdroj infekce pro plodiny pěstované na stejném pozemku v dalším roce. Je proto zajímavé, že při testování plevelných rostlin v rámci této práce vyšly všechny výsledky negativně. Jedním z možných vysvětlení je to, že některé z odebraných plevelných druhů nemusí patřit do hostitelského spektra testovaných virů. Další možnou příčinou je skutečnost, že některé ozimé plevele, jako je například heřmánkovec přímořský, mohly vzcházet až po sklizni a likvidaci rostlinných zbytků a nebyly tak infikovány. Nejčastěji se objevujícími viry tykvovitých plodin v České republice jsou ZYMV, WMV a CMV a jsou přenášeny mšicemi neperzistentním způsobem. Mšice, které by tedy potenciálně přenesly viry na plevelné rostliny mohly ztratit infekčnost dříve, než k jejich přeletu došlo. Jiným možným vysvětlením je testování příliš malého počtu rostlin od každého druhu. Při zkoumání přezimování ZYMV v České republice a zjišťování potenciálních rezervoárů viru v letech 2001–2002, byla nákaza zjištěna pouze u jednotek procent z celkového počtu 409 testovaných plevelných rostlin (Svoboda & Polák, 2002).

Plevelné rostliny z okolí porostů cukrové řepy nebyly testovány na přítomnost žloutenkových virů, jelikož se v roce 2023 virové žloutenky řepy nevyskytovaly, jak již bylo uvedeno výše v této kapitole.

7 Závěr

V rámci této bakalářské práce byly popsány patogeny figurující jako nejčastější původci virových žloutenek cukrové řepy, kterými jsou rostlinné viry BYV, BMVYV a BChV. Dále byl zvážen možný dopad aktuálních legislativních omezení v odvětví ochrany rostlin a změn klimatických podmínek na zvyšování tlaku těchto virových patogenů v budoucích letech.

Dále byly popsány a následně detekovány viry vyskytující se v porostech tykvovité zeleniny na několika lokalitách ve Středočeském a Ústeckém kraji v roce 2023. Zjištěné četnosti výskytu byly porovnány s daty z testování prováděného v letech 2007–2011. Jako nejčastěji se vyskytující viry tykvovitých plodin při testování v roce 2023 byly určeny rostlinné viry WMV, ZYMV a CMV podobně jako v letech 2007–2011. Rozdíl byl pozorován v četnosti i prostorovém rozšíření WMV, který byl v roce 2023 detekován na všech lokalitách na území obou zmíněných krajů, kdežto v letech 2007–2011 byl detekován pouze v kraji Ústeckém. V rámci testování byly s nižší až velmi nízkou mírou četnosti detekovány také méně obvyklé viry jako jsou CABYV, MWMV, či ZYFV. MWMV a ZYFV nebyly doposud v České republice popsány.

Je tedy pravděpodobné, že vznikají stále vhodnější podmínky pro přezimování i šíření virů tykvovitých rostlin v České republice a dochází k dalšímu posouvání hranic výskytu těchto virových patogenů i k šíření virů, které doposud nebyly předmětem monitorování.

Virové patogeny popsané v rámci této bakalářské práce jsou schopny způsobovat významné škody na výnosech cukrové řepy nebo tykvovitých plodin. Z toho důvodu je podstatné šíření těchto patogenů dále monitorovat a hledat způsoby, kterými by šíření mohlo být zpomaleno a kontrolováno. Mezi významná opatření lze zařadit zejména šlechtění nových odolných odrůd, jelikož možnosti chemické ochrany rostlin či osiva jsou stále více limitovány.

V rámci této práce byla popsána hostitelská spektra virů tykvovitých plodin i cukrové řepy, do nichž patří řada volně rostoucích rostlin, které často figurují jako rostliny plevelné. Některé z těchto rostlin jsou víceleté či vytrvalé, a mají proto potenciál stát se rezervoáry pomáhajícími virovým patogenům přezimovat v podmínkách mírného podnebného pásu a následně sloužit jako zdroje infekce v dalších letech. S monitorováním výskytu a šíření rostlinných virů je úzce spojeno hledání jejich hostitelů. Jedná se však o problematiku, která není v České republice zcela prozkoumána a je proto zásadní pokračovat v určování zdrojů virových infekcí.

8 Literatura

Adkins S. 2001. Tomato spotted wilt virus—positive steps towards negative success. *Molecular Plant Pathology* **1**: 151-157.

AVČR. 2021. Avex/expertní stanovisko: Rostlinné viry. AVČR, Praha. Available from <https://www.avcr.cz/export/sites/avcr.cz/cs/veda-a-vyzkum/avex/files/2021-02.pdf> (accessed November 2023).

Ben Mansour K., Gibbs A. J., Komínková M., Komínek P., Brožová J., Kazda J., Zouhar M., Ryšánek P. 2023. Watermelon mosaic virus in the Czech Republic, its recent and historical origins. *Plant Pathology* **72**: 1528-1538.

Bittner V. 2012. Další viry na cukrovce. *Listy cukrovarnické a řepařské* **128**: 234-235.

Bittner V. 2012. Poruchy ve výživě cukrovky. *Listy cukrovarnické a řepařské* **128**: 56-59.

Bittner V. 2012. Rizománie řepy. *Listy cukrovarnické a řepařské* **128**: 182-183.

Bouma D. 2021. Mšice na řepě. Profi Press, Praha. Available from <https://uroda.cz/msice-na-repe/> (accessed October 2023).

Clover A., Smith J. 2002. The effects of beet yellows virus on the growth and physiology of sugar beet (*Beta vulgaris*). *Plant Pathology* **48**: 129-138.

Desbiez C., Lecoq H. 1997. Zucchini yellow mosaic virus. *Plant Pathology* **46**: 809-829.

Desbiez C., Lecoq H. 2008. Watermelon Mosaic Virus and Zucchini Yellow Mosaic Virus. Pages 433-440 in B.W.J. Mahy, M.H.V. Van Regenmortel editors. *Encyclopedia of Virology*. Academic Press, Cambridge.

Dewar A. M., Qi A. 2021. The virus yellows epidemic in sugar beet in the UK in 2020 and the adverse effect of the EU ban on neonicotinoids on sugar beet production. *Outlooks on Pest Management* **32.2**: 53-59.

Dolja V. V. 2003. Beet yellows virus: the importance of being different. *Plant Pathology* **4**: 91-98.

European Food Safety Authority. 2014. Scientific Opinion on the pest categorisation of Beet leaf curl virus. *EFSA Journal* (e 3847) DOI: 10.2903/j.efsa.2014.3847.

Fryč D. 2024. Nálety mšic do sacích pastí Johnson-Taylor v roce 2023. Kurent, České Budějovice. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/skudci/nalety-msic-do-sacich-pasti-johnson-taylor-v-roce-2023> (accessed April 2024).

Fryč D., Rychlý S. 2014. Mšice: Malý atlas do ruky 1. UKZÚZ, Praha.

Grumet R., McCreight J. D., McGregor C., Weng Y., Mazourek M., Reitsma K., Labate J., Davis A., Fei Z. 2021. Genetic Resources and Vulnerabilities of Major Cucurbit Crops. *Genes* (e1222) DOI: 10.3390/genes12081222.

- Hammerová A., Polcar A., Šimečková J., Jandák J. 2016. Rizika pěstování cukrové řepy na erozně ohrožených pozemcích. Listy cukrovarnické a řepářské. **132**: 375-379.
- Hezký P. 2021. Podzimní příprava půdy pro cukrovou řepu. Profi Press, Praha. Available from <https://uroda.cz/podzimni-priprava-pudy-pro-cukrovou-repu/> (accessed October 2023).
- Hlisnikovský L., Kunzová E., Klír J., Hejcman M. 2014. Vliv hnojení a osevních postupů na výnosy a cukernatost cukrové řepy. Listy cukrovarnické a řepářské **130**: 50-56.
- Chatzivassiliou E. K., Papapanagiotou A. P., Mpenardis P. D., Perdikis D. Ch., Menexes G. 2016. Transmission of Moroccan watermelon mosaic virus (MWMV) by Aphids in Greece. Plant Disease **100**: 601-606.
- Chochola J. 2010. Průvodce pěstováním cukrové řepy. Řepářský institut, Semčice.
- Chochola J. 2012. Vliv půdní zásoby dusíku na potřebu hnojení cukrové řepy. Listy cukrovarnické a řepářské **128**: 90-95.
- Chochola J. 2024. Proč bojujeme za neonikotinoidy. Listy cukrovarnické a řepářské **137**: 180-182.
- Jacquemond M. 2012. Cucumber Mosaic Virus. Advances in Virus Research **84**: 439-504.
- Jones R. A. C. 2006. Control of Plant Virus Diseases. Advances in Virus Research **67**: 205-244.
- Jursík M., Holec J. 2016. Regulace plevelů v cukrové řepě. Kurent, České Budějovice. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/plevele/regulace-plevelu-v-cukrove-repe> (accessed October 2023).
- Kassem M. A., Sempere R. N., Juárez M., Aranda M. A., Truniger V. 2007. Cucurbit aphid-borne yellows virus is prevalent in field-grown cucurbit crops of southeastern Spain. Plant Disease **91**: 232-238.
- Křen J., Neudert L., Procházková B., Smutný V., Hůla J. 2015. Obecná produkce rostlinná – 2. část. Mendelova univerzita v Brně, Brno.
- Lecoq H., Bourdin D., Wipf-Scheibel C., Bon M., Lot H., Lemaire O., Herrbach E. 1992. A new yellowing disease of cucurbits caused by a luteovirus, cucurbit aphid-borne yellows virus. Plant Pathology **41**: 749-761.
- Lecoq H., Dafalla G., Desbiez C., Wipf-Scheibel C., Delécolle B., Lanina T., Ullah Z., Grumet R. 2001. Biological and molecular characterization of Moroccan watermelon mosaicvirus and a potyvirus isolate from Eastern Sudan. Plant Disease **85**:547-552.
- Lecoq H., Desbiez C. 2008. Watermelon Mosaic Virus and Zucchini Yellow Mosaic Virus. Pages 433-440 in B.W.J. Mahy, M.H.V. Van Regenmortel editors. Encyclopedia of Virology. Academic Press, Cambridge.
- Lecoq H., Desbiez C. 2012. Viruses of Cucurbit Crops in the Mediterranean Region: An Ever-Changing Picture. Advances in Virus Research **84**: 68-114.

Lennefors B. 2021. Virové žloutenky cukrové řepy – co je nového? Listy cukrovarnické a řepařské **137**: 240-244.

Maňasová M. 2023. Viry žloutenek řepy cukrové a dopad na její pěstování. Kurent, České Budějovice, Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/choroby/viry-zloutenek-repy-cukrove-a-dopad-na-jeji-pestovani> (accessed January 2024).

McCreight J. D. 2016. Cultivation and Uses of Cucurbits in Grumet R., Katzir N., Garcia-Mas J. editors. Genetics and Genomics of Cucurbitaceae. Plant Genetics and Genomics: Crops and Models. Springer, Cham.

Mnari-Hattab M., Gauthier N., Zouba A. 2009. Biological and molecular characterization of the Cucurbit aphid-borne yellows virus affecting cucurbits in Tunisia. Plant Disease **93**: 1065-1072.

Navrátil M. 2011. Základy virologie: obecná virologie. Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc.

Nelson M. R., Knuhtsen H. K. 1973. Squash Mosaic Virus Variability: Review and Serological Comparisons of Six Biotypes. Phytopathology **63**: 920-926.

Odbor rostlinných komodit MZe. 2022. Situační a výhledová zpráva: Zelenina. Ministerstvo zemědělství, Praha.

Palukaitis P., García-Arenal F. 2008. Cucumber Mosaic Virus. Pages 171-176 in M. H. V. van Regenmortel, B. W. J. Mahy editors. Desk encyclopedia of Plant and Fungal Virology. Academic Press, Oxford.

Palukaitis P., Roossinck M. J., Dietzgen R. G., Francki R. I. B. 1992. Cucumber Mosaic Virus. Advances in Virus Research **41**: 281-348.

Pančíková J. 2019. Vývoj a současný stav pěstování cukrové řepy v České republice. Profi Press, Praha. Available from <https://uroda.cz/vyvoj-a-soucasny-stav-pestovani-cukrove-repy-v-ceske-republice/> (accessed September 2023).

Parrella G., Gognalons P., Gebre-Selassie K., Vovlas C., Marchoux G. 2003. An update of the host range of tomato spotted wilt virus. Journal of Plant Pathology **85**: 227-264.

Petříková K., et al. 2012. Zelenina – pěstování, výživa, ochrana a ekonomika. Profi Press, Praha.

Poláková L. 2023. Cucurbit aphid-borne yellows virus – riziko pro tykvovité plodiny. Profi Press, Praha. Available from <https://zahradaweb.cz/cucurbit-aphid-borne-yellows-virus-riziko-pro-tykvovite-plodiny/> (accessed December 2023).

Pulkrábek J., Urban J., Bečková L., Valenta J. 2007. Řepa cukrová – pěstitelský rádce. Kurent, Praha

Richter R., Škarpa P. 2013. Úprava živinného režimu půd pro cukrovku – předpoklad stabilní a kvalitní produkce. Listy cukrovarnické a řepařské **129**: 219-222.

Rosypal S., et al. 1998. Přehled biologie. Scientia, Praha.

- Ryšánek P., Maňasová M., Chochola J., Zouhar M. 2021. Hrozí nám návrat virových žloutenek řepy? Listy cukrovarnické a řepařské **137**: 411-416.
- Sharma A., Katoch V., Rana Ch. 2016. Important Diseases of Cucurbitaceous Crops and Their Management. Pages 302-320 in Pessaraki M., editor. Handbook of Cucurbits Growth, Cultural Practices and Physiology. CRC Press, Boca Raton.
- Svoboda J. 2012. Virové choroby tykvovitých zelenin v ČR a možnosti ochrany proti nim. Rostlinolékař **2012/3**: 22-26.
- Svoboda J., Leisová-Svobodová L. 2011. First Report of *Squash Mosaic Virus* in Ornamental Pumpkin in the Czech Republic. Plant Disease **95**: 1321.
- Svoboda J., Polák J. 2002. Distribution, Variability and Overwintering of Zucchini Yellow Mosaic Virus in the Czech Republic. Plant Protection Science **38**: 125–130.
- Šefrová H. 2013. Maločlenec čárkovitý. Listy cukrovarnické a řepařské **129**: 292-294.
- Šlosár M., Ferusová S. 2009. Virus žluté mozaiky cukety. Profi Press, Praha. Available from <https://zahradaweb.cz/virus-zlute-mozaiky-cukety/> (accessed December 2023).
- Švachula V., Pulkrábek J. 2020. Budoucnost pěstování cukrové řepy. Kurent, České Budějovice. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/management-a-legislativa/management/budoucnost-pestovani-cukrove-repy> (accessed September 2023).
- Švachula V., Pulkrábek J. 2020. Budoucnost pěstování cukrové řepy. Kurent, České Budějovice. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/management-a-legislativa/management/budoucnost-pestovani-cukrove-repy> (accessed September 2023).
- Tóth P., Daňa P., Rošlapil J., Machalová O. 2017. Škůdci řepy a jejich regulace. Kurent, České Budějovice. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/skudci/skudci-repy-a-jejich-regulace> (accessed October 2023).
- UKZÚZ. 2014–2024. Rostlinolékařský portál: Cerkosporová listová skvrnitost řepy. UKZÚZ, Praha. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%222eb5788ffd084b2d28065f0ae38be9ec%22#r|p|so|choroby|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c491e2a (accessed October 2023).
- UKZÚZ. 2014–2024. Rostlinolékařský portál: Řepa obecná cukrovka – Pěstební opatření. UKZÚZ, Praha. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c485833%22#r|p|plodiny|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c485833|pestovani (accessed November 2023).
- UKZÚZ. 2014–2024. Rostlinolékařský portál: Tykev obecná – Pěstební opatření. UKZÚZ, Praha. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c5c3a74%22#r|p|plodiny|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c5c3a74|pestovani (accessed September 2023).

UKZÚZ. 2014–2024. Rostlinolékařský portál: Virová bronzovitost rajčete. UKZÚZ, Praha. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c3a6610%22#r|p|so|choroby|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c3a6610|popis (accessed April 2024).

UKZÚZ. 2014–2024. Rostlinolékařský portál: Virus mozaiky okurky. UKZÚZ, Praha. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c735504%22#r|p|so|choroby|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c735504 (accessed December 2023).

UKZÚZ. 2014–2024. Rostlinolékařský portál: Virus mozaiky vodního melounu. UKZÚZ, Praha. Available from https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c825346%22#r|p|so|choroby|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c825346|popis (accessed December 2023).

Vaculík P. 2015. Biotechnologické využití rostlinných virů. Rigorózní práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Praha.

Venclová B. 2009. Rostliny umějí rozpoznat patogeny. Profi Press, Praha. Available from <https://uroda.cz/rostliny-umeji-rozpoznat-patogeny/> (accessed April 2024).

Víchová J. 2021. Choroby řepy (1): Virové choroby řepy. Kurent, České Budějovice. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/choroby/choroby-repy-1-virove-choroby-repy-i> (accessed December 2023).

Víchová J. 2021. Choroby řepy (2): Virové choroby řepy. Kurent, České Budějovice. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/choroby/choroby-repy-2-virove-choroby-repy-ii> (accessed December 2023).

Votava J., Kumbár V. 2014. Využití nástrojových ocelí v oblasti zpracování půdy pro zlepšení pěstování cukrové řepy. *Listy cukrovarnické a řepařské* **130**: 292-296.

Wang Y., Behera T. K., Kole Ch. 2012. *Genetics, Genomics and Breeding of Cucurbits*. Science Publishers, St. Helier.

Winkler J., Děkanovský I., Kotlánová B., Pfejr L., Neudert L. 2022. Plevelé v cukrovce a technologie zpracování půdy. Kurent, České Budějovice. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/plevele/plevele-v-cukrovce-a-technologie-zpracovani-pudy> (accessed October 2023).

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

Symboly

°C	teplota	t (°C)
μg	hmotnost	m (kg)
μl	objem	V (m ³)
μM	molární koncentrace	c (mol/dm ³)
bp	velikost DNA/RNA	
cm	délka	l (m)
g	tíhové zrychlení	g (m/s ²)
ha	plocha	S (m ²)
l	objem	V (m ³)
M	molární koncentrace	c (mol/dm ³)
ml	objem	V (m ³)
mm	délka	l (m)
mM	molární koncentrace	c (mol/dm ³)
nm	délka	l (m)
t/ha	výnos	
V	napětí	U (V)

Zkratky

BChV	beet chlorosis virus
BLCV	beet leaf curl virus
BMV	beet mild yellowing virus
BNYVV	beet necrotic yellow vein virus
BtMV	beet mosaic virus
BYV	beet yellows virus
CABYV	cucurbit aphid-borne yellows virus
CMV	cucumber mosaic virus
ČR	Česká republika
DAS-ELISA	Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ddH ₂ O	dvakrát destilovaná voda
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EU	Evropská unie
MWMV	moroccan watermelon mosaic virus
PCR	polymerase chain reaction
RNA	ribonukleová kyselina
RT-PCR	reverse transcription polymerase chain reaction
SqMV	squash mosaic virus
ssRNA	jednovláknová ribonukleová kyselina
TAS-ELISA	Triple Antibody Sandwich Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
TSWV	tomato spotted wilt virus
WMV	watermelon mosaic virus
ZYFV	zucchini yellow fleck virus
ZYMV	zucchini yellow mosaic virus