

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra ochrany rostlin**



**Výskyt virů v obilninách, zelenině a cukrové řepě**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: David Kraus**

**Obor studia: Rostlinolékařství (ATZL)**

**Vedoucí práce: prof. Ing. Pavel Ryšánek, CSc.**

© 2021 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Výskyt virů v obilninách, zelenině a cukrové řepě" jsem vypracoval 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 autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne \_\_\_\_\_

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval vedoucímu prof. Ing. Pavlu Ryšánkovi, CSc. za úvodní seznámení s metodou ELISA, cenné rady při konzultacích a jeho obětavý a chápavý přístup. Za korekturu textu děkuji Veronice Nývltové.

# Výskyt virů v obilninách, zelenině a cukrové řepě

## Souhrn

Rostlinné viry jsou významnými patogeny v oblasti zemědělství dokáží způsobit citelné ztráty na zemědělské produkci. Virus žluté zakrslosti ječmene (BYDV) a virus zakrslosti pšenice (WDV) jsou nejvýznamnějšími virovými patogeny vyskytující se v porostech obilnin. Mezi hlavní virové patogeny cukrové řepy patří virus žloutenky řepy (BYV), virus mírného žloutnutí řepy (BMYV) a virus mozaiky řepy (BtMV). Plodová zelenina z čeledi tykvovitých (*cucurbitaceae*) je napadána celou řadou rostlinných virů, mezi které patří mšicemi přenosný virus žloutenky tykvovitých (CABYV), virus mozaiky okurky (CMV), virus mozaiky tykve (SqMV), virus mozaiky vodního melounu (WMV) a virus žluté mozaiky cukety (ZYMV). V současné době není známa přímá metoda ochrany rostlin proti těmto chorobám, proto je nutné spoléhat na metody nepřímé, a to na kontrolu hmyzích vektorů či pěstování rezistentních odrůd.

Předmětem této práce bylo určení míry výskytu těchto jednotlivých virů a vyvození závěrů o jejich výskytu. Pro tento účel bylo odebráno 155 vzorků z celkem 9 lokalit v České republice, které byli později testovány metodou ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) na přítomnost zmíněných rostlinných virů. Z celkové počtu 155 testovaných vzorků vykazovalo 52,3 % vzorků přítomnost aspoň jednoho z testovaných virů.

**Klíčová slova:** ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), rostlinné viry, obilniny, cukrová řepa, tykvovitá zelenina.

# Occurrence of viruses in cereals, vegetable and sugar beet

## Summary

Plant viruses are important pathogens in agriculture and can cause significant losses in agricultural production. Barley yellow dwarf virus (BYDV) and Wheat dwarf virus (WDV) are the most important viral pathogens found in cereal crops. The main viral pathogens of sugar beet are Beet yellows virus (BYV), Beet mild yellowing virus (BMYV) and Beet mosaic virus (BtMV). Fruit vegetables from the cucurbitaceae family are infested with a variety of plant viruses, including Cucurbit aphid-borne yellows virus (CABYV), Cucumber mosaic virus (CMV), Squash mosaic virus (SqMV), Watermelon mosaic virus (WMV) and Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV). Currently, there is no direct method of plant protection against these diseases, so it is necessary to rely on indirect methods, especially on the control of insect vectors or the cultivation of resistant varieties. The matter of this bachelor thesis was to determine the incidence rates of the individual viruses and draw conclusion about their appearance. For this purpose, 155 samples were taken from a total of 9 locations in the Czech Republic. Which were later tested by ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) for the presence of said plant viruses. Of the total number of 155 tested samples, 52.3% of samples showed the presence of at least one of the tested viruses.

**Keywords:** ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), plant viruses, cereals, sugar beet, pumpkin vegetables.

# Obsah

1	ÚVOD .....	1
2	CÍL PRÁCE .....	2
3	LITERÁRNÍ REŠERŠE.....	3
<b>3.1</b>	<b>Viry .....</b>	<b>3</b>
3.1.1	Obecná charakteristika virů.....	3
3.1.2	Morfologie a struktura virů .....	3
3.1.3	Klasifikace .....	4
3.1.4	Rostlinné viry .....	5
<b>3.2</b>	<b>Rostlinný virus jako patogen .....</b>	<b>5</b>
3.2.1	Přenos virových patogenů .....	5
3.2.2	Infekce a příznaky .....	6
3.2.3	Obrana rostliny proti virům .....	7
3.2.4	Výskyt a škodlivost virových chorob v ČR.....	7
<b>3.3</b>	<b>BtMV – virus mozaiky řepy (<i>Beet mosaic virus</i>).....</b>	<b>8</b>
3.3.1	Popis .....	8
3.3.2	Přenos viru .....	9
3.3.3	Příznaky .....	9
3.3.4	Ochrana .....	9
<b>3.4</b>	<b>BYV – virus žloutenky řepy (<i>Beet yellows virus</i>) .....</b>	<b>10</b>
3.4.1	Popis .....	10
3.4.2	Přenos viru .....	10
3.4.3	Příznaky .....	11
3.4.4	Ochrana .....	11
<b>3.5</b>	<b>BMV – virus mírného žloutnutí řepy (<i>Beet mild yellowing virus</i>).....</b>	<b>11</b>
3.5.1	Popis .....	12
3.5.2	Přenos viru .....	12
3.5.3	Příznaky .....	12
3.5.4	Ochrana .....	12
<b>3.6</b>	<b>CABYV – mšicemi přenosný virus žloutenky tykvovitých (<i>Cucurbit aphid-borne yellows virus</i>) .....</b>	<b>13</b>
3.6.1	Popis .....	13
3.6.2	Přenos viru .....	13
3.6.3	Příznaky .....	14
3.6.4	Ochrana .....	14
<b>3.7</b>	<b>CMV – virus mozaiky okurky (<i>Cucumber mosaic virus</i>) .....</b>	<b>14</b>
3.7.1	Popis .....	15
3.7.2	Přenos viru .....	15
3.7.3	Příznaky .....	15
3.7.4	Ochrana .....	15
<b>3.8</b>	<b>SqMV – virus mozaiky tykve (<i>Squash mosaic virus</i>).....</b>	<b>16</b>
3.8.1	Popis .....	16
3.8.2	Přenos viru .....	16
3.8.3	Příznaky .....	17
3.8.4	Ochrana .....	17

<b>3.9</b>	<b>WMV – virus mozaiky vodního melounu (<i>Watermelon mosaic virus</i>)</b>	<b>17</b>
3.9.1	Popis	17
3.9.2	Přenos viru	18
3.9.3	Příznaky	18
3.9.4	Ochrana	18
<b>3.10</b>	<b>ZYMV – virus žluté mozaiky cukety (<i>Zucchini yellow mosaic virus</i>)</b>	<b>19</b>
3.10.1	Popis	19
3.10.2	Přenos viru	19
3.10.3	Příznaky	19
3.10.4	Ochrana	20
<b>3.11</b>	<b>BaYDV – virus žluté zakrslosti ječmene (<i>Barley yellow dwarf virus</i>)</b>	<b>20</b>
3.11.1	Popis	20
3.11.2	Přenos viru	21
3.11.3	Příznaky	21
3.11.4	Ochrana	21
<b>3.12</b>	<b>WDV – virus zakrslosti pšenice (<i>Wheat dwarf virus</i>)</b>	<b>22</b>
3.12.1	Popis	22
3.12.2	Přenos viru	22
3.12.3	Příznaky	22
3.12.4	Ochrana	23
<b>4</b>	<b>MATERIÁLY A METODY</b>	<b>24</b>
<b>4.1</b>	<b>Metodický postup pro odběr vzorků</b>	<b>24</b>
4.1.1	Biologický materiál	24
4.1.2	Lokality odběru	24
4.1.3	Odběr vzorků	24
<b>4.2</b>	<b>Pracovní postup ELISA</b>	<b>25</b>
4.2.1	DAS-ELISA	25
4.2.2	TAS-ELISA	26
4.2.3	Složení pufrů a roztoků	26
<b>5</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST</b>	<b>27</b>
<b>5.1</b>	<b>Lokality odběru vzorků</b>	<b>27</b>
<b>5.2</b>	<b>Výsledky</b>	<b>28</b>
5.2.1	Testování tykví 2020	28
5.2.2	Testování tykví 2019	30
5.2.3	Testování obilí	31
5.2.4	Testování cukrové řepy	33
<b>6</b>	<b>DISKUZE</b>	<b>36</b>
<b>7</b>	<b>ZÁVĚR</b>	<b>38</b>
<b>8</b>	<b>ZDROJE</b>	<b>39</b>
<b>8.1</b>	<b>Seznam použité literatury</b>	<b>39</b>
<b>8.2</b>	<b>Internetové zdroje</b>	<b>40</b>

# 1 Úvod

Rostlinné viry jsou významnými patogeny v oblasti zemědělství. Některé druhy virů nebo směsná infekce dvou i více virů dokážou způsobit citelné ztráty na zemědělské produkci nebo snížit kvalitu zemědělských produktů. Výzkum virů nám dává spoustu nových poznatků, které nám mohou pomoci zefektivnit zemědělskou výrobu. Přímá ochrana proti rostlinným virům zatím neexistuje. Díky poznatkům o rostlinných virech, jejich přenosu a šíření můžeme zavádět preventivní ochranná opatření, která pomohou zamezit infekci rostlin nebo mohou bránit jejímu šíření v porostu. V současnosti se využívá především nepřímých metod, například ochrany pomocí insekticidních prostředků, sloužících k eliminaci přenašečů virových chorob (Agromanuál 2019).

Určité zemědělské plodiny jsou napadány řadou různých virů, které se vyskytují s různou frekvencí. Jejich výskyt je často ovlivněn celou řadou faktorů. Vít Bittner (2012) uvádí, že „virové žloutenky patří k hlavním představitelům virových chorob cukrovky. Jako původci virového žloutnutí se uvádí virus žloutenky řepy (BYV), virus mírného žloutnutí řepy (BMYV) a jemu velmi blízce příbuzný virus západní žloutenky řepy (BWYV). Dále, že „výskyt virových chorob v porostech cukrové řepy není příliš častý díky používání velmi kvalitního insekticidního moření osiva.“ V roce 2018 Evropská komise zakázala moření osiv polních plodin insekticidními látkami ze skupiny neonikotinoidů (thiamethoxam, clothianidin, imidacloprid), s výjimkou na použití osiva cukrovky mořeného látkou thiamethoxam ještě pro rok 2019 (Agromanuál 2019). Výjimka byla dále udělena pro roky 2020 i 2021 (Listy cukrovarnické a řepařské 2020). Předpoklad zvýšeného výskytu virových žloutenek u cukrové řepy v případě uplatnění tohoto zákazu je jednou z hypotéz této práce.

Virus žluté zakrslosti ječmene (BYDV) a virus zakrslosti pšenice (WDV), jsou nejčastějšími původci virových chorob obilnin. Způsobují hospodářsky významné škody na našich polích již řadu let (Ministerstvo zemědělství 2019).

Plodová zelenina z čeledi tykvovitých (*Cucurbitaceae*) je napadána celou řadou rostlinných virů, mezi které patří mšicemi přenosný virus žloutenky tykvovitých (CABYV), virus mozaiky okurky (CMV), virus mozaiky tykve (SqMV), virus mozaiky vodního melounu (WMV) a virus žluté mozaiky cukety (ZYMV) (Ministerstvo zemědělství 2019).



## **2 Cíl práce**

Cílem této práce je otestovat dostatečné množství vzorků obilnin, zeleniny a cukrové řepy, stanovit výskyt jednotlivých virů a pokusit se vyvodit závěry o jejich výskytu v závislosti na vnějších podmínkách.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Viry

Až do konce devatenáctého století byly infekční choroby přisuzovány bakteriím. Prvními experimenty, které naznačily existenci menších původců chorob, než jsou bakterie prováděl Adolf Eduard Mayer, který se zabýval mozaikovou chorobou tabáku. Podařilo se mu přenést chorobu rozetřením šťávy z listů infikovaných rostlin na listy zdravých rostlin. Nepodařilo se mu však z infekčního extraktu vypěstovat žádnou bakterii. Vysvětlení projevů choroby na zdravém listu a nepřítomnost bakterií přikládal výskytu bakteriálních enzymů v infekčním roztoku. Průlom nastal až v roce 1892, kdy ruský botanik Dmitrij Ivanovskij provedl pokus s extrakty tabáku, napadeného virem mozaiky tabáku. Když tento extrakt přefiltroval přes bakteriologické filtry, jimiž žádné bakterie neprojdou, filtrát byl stále infekční. Ivanovskij příčinu tohoto jevu neodhalil a stále hledal původce tabákové mozaiky v toxických látkách či ve velmi malých bakteriích. Roku 1898 pokus zopakoval nizozemský botanik a mikrobiolog Martinus Willem Beijerinck. Prokázal multiplikaci činitele v nakaženém pletivu. Na základě toho vyslovil myšlenku, že původcem onemocnění není toxin, ale něco zcela odlišného od dosud známých bakterií. Tohoto činitele nazval termínem „*contagium vivum fluidum*“ (nakažlivá živoucí tekutina), a položil tak základ nového vědního oboru, dnes nazývaného virologií (Hull 2009).

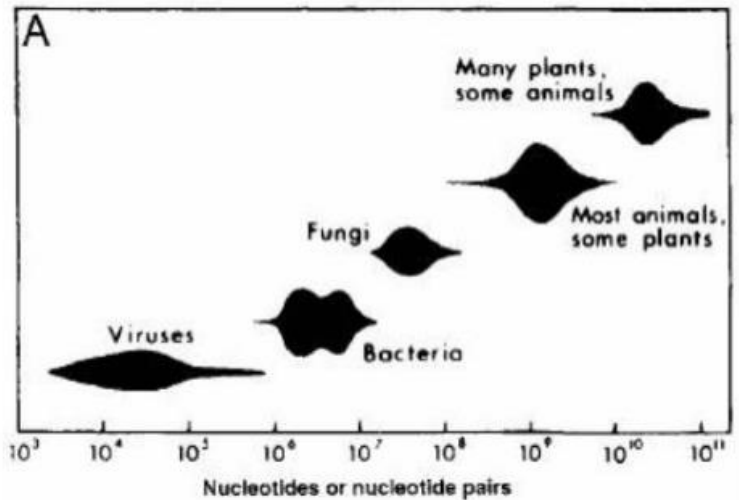
#### 3.1.1 Obecná charakteristika virů

Viry patří společně s viroidy, virusoidy a priony mezi nebuněčné částice. Tato skupina struktur se nachází na hranici živých a neživých systémů (Lhotský 2015). Viry mají znaky společné s živými organismy, mezi něž patří přítomnost genetické informace, uložené v sekvenci nukleových kyselin. Tím pádem jsou schopny se vyvíjet a přizpůsobovat podmínkám prostředí. Nejsou však schopny se, na rozdíl od živých organismů, samy rozmnožovat, ani metabolicky opatřovat a ukládat energii nebo provádět syntézu vlastních bílkovin (Cann 2005). Žijí jako obligátní buněční parazité. Aby se mohly rozmnožit, musí proniknout do hostitelské buňky a využít jí pro syntézu vlastních bílkovin a replikace své genetické informace (Rosypal 1994).

#### 3.1.2 Morfologie a struktura virů

Jednotlivá částice viru schopná infikovat hostitelskou buňku a množit se v ní se obecně nazývá virion. Tyto částice dosahují velmi malých rozměrů, jsou viditelné pouze pomocí elektronového mikroskopu. Velikost jednoho virionu se pohybuje od 0,02  $\mu\text{m}$  do 0,20  $\mu\text{m}$ , což je v porovnání s prokaryotickou buňkou, která dosahuje velikosti od 1  $\mu\text{m}$  do 2  $\mu\text{m}$ , více jak desetkrát méně (Rosypal 1994). Virion se skládá z vnitřní části nazývané nukleoid, který je tvořen nukleovou kyselinou ve formě jednovláknové (ss) či dvouvláknové (ds) DNA nebo RNA. Jednovláknovou formu RNA dále dělíme na pozitivní (+RNA) a negativní (– RNA). Vnější proteinovou schránku obklopující nukleovou kyselinu viru nazýváme kapsida. Celý tento komplex se označuje jako nukleokapsid. Kapsida je složená z proteinových podjednotek, takzvaných kapsomer. Jejich tvar umožňuje vzájemné skládání do větších celků. Skládáním

kapsomer vzniká určitá symetrie kapsidu. Ta může být ikosaedrální (kubická), helikální (spirální) nebo komplexní (Knipe & Howley 2007). Z kapsidy mohou vyčnívat různé výběžky nebo hroty. Tyto struktury jsou, stejně jako kapsida viru, bílkovinného charakteru. Mnohé viry jsou z vnějšku navíc obaleny lipoproteinovou dvouvrstvou membránou pocházející z cytoplazmatické nebo jaderné membrány buněk, z které se daný virus uvolnil (Rosypal 1994). Tento vnější obal se vyskytuje zejména u řady živočišných virů. Fytoviry v naprosté většině tento obal postrádají (Burchett & Burchett 2017). V závislosti na druhu viru může mít virion různé tvary. Nejběžnější jsou kulovité, tyčinkovité, vláknité, spirálovité nebo geometrické (Kazda 2003). Genom viru je obvykle malý, ve formě nukleové kyseliny o velikosti od  $10^3$  až  $10^6$  nukleotidů nebo párů nukleotidů, v závislosti na typu nukleové kyseliny. Obvykle kóduje od 1 do 250 proteinů (Hull 2001).



Obrázek 1 Porovnání velikostí genomu, (Hinegardner, 1976 in Matthews) <<https://socv2.nidv.cz/archiv33/getWork/hash/309bfe8c-5869-11e0-a844-001e6886262a>>

### 3.1.3 Klasifikace

Klasifikace virů je, vzhledem k jejich rozmanitosti, daleko složitější než u buněčných organismů. Mezi první klasifikace patří takzvaná Holmesova klasifikace z roku 1948, která rozdělovala viry podle hostitelských organismů na takzvané fágy, např: bakteriofágy (napadající bakterie), fytofágy (napadající rostliny), cyanofágy (napadající sinice) a zoofágy (napadající živočichy). Pozdější LHT klasifikace, kterou navrhli v roce 1962 André Lwoff, R. W. Horne a P. Tournier, začala viry rozdělovat podle společně sdílených strukturních, fyzikálních a chemických vlastností. O zařazení viru rozhodovalo 5 hlavních kritérií, zahrnujících druh nukleové kyseliny genomu (DNA, RNA), symetrie kapsidy (šroubovice, dvacetistěn, složitý tvar), přítomnost či nepřítomnost virového obalu, počet kapsomer, rozměry virionu a kapsidy (Hull 2009). Nejdůležitější charakteristikou virů je typ genetického materiálu, obsaženého ve virových částicích, a způsob jeho přepisu do virové mRNA. Toho využívá Baltimorská klasifikace, která rozděluje viry do sedmi skupin (dsDNA viry, ssDNA viry, dsRNA viry, ssRNA viry s pozitivní polaritou, ssRNA viry s negativní polaritou, ssRNA viry s reverzní transkriptázou, dsDNA viry s reverzní transkriptázou) (Knipe & Howley 2007). Viry v předchozích klasifikacích však nemusely být zařazeny podle fylogenetické příbuznosti, které je snahou docílit v biologických klasifikačních systémech. O tu se snaží podrobný, každoročně aktualizovaný systém Mezinárodního výboru pro taxonomii virů (International Committee on Taxonomy of Viruses = ICTV). ICTV klasifikuje jednotlivé druhy virů do říší, kmenů (případně i podkmenů), tříd, řádů (podřádů), čeledí (podčeledí) a rodů (podrodů) (Hull 2009).

### 3.1.4 Rostlinné viry

Rostlinné viry nebo také fytoviry jsou skupinou virů, která infikuje rostliny a způsobuje jim virové onemocnění. Některé rostlinné viry mohou být monofágní, například virus proužkovitosti ječmene. Naopak jiné viry mohou být polyfágní, jako například virus mozaiky okurky, který napadá více než 1300 druhů rostlin ve 100 čeledích (Hull 2009). Rostlinné viry musely přizpůsobit svůj životní cyklus i stavbu virové částice specifické stavbě rostlinné buňky. Povrch rostliny je pokryt kutikulou a rostlinné buňky jsou chráněny buněčnou stěnou, která brání rostlinným virům v kontaktu s cytoplazmatickou membránou buněk. Rostlinné viry potřebují nějakým způsobem překonat tyto ochranné struktury. Pomáhá jim v tom mechanické poškození rostliny nebo tzv. vektor (přenašeč). Vektorem bývá obvykle hmyz s bodavě sacím ústním ústrojím a dále například roztoči, prvoci, háďátka nebo houby. Rozdílné je i šíření viru v rostlině. Rostlinné buňky jsou navzájem propojeny pomocí plasmodesmat. Tímto propojením dochází k šíření infekce do okolních buněk (Rosypal et al. 2002).

## 3.2 Rostlinný virus jako patogen

### 3.2.1 Přenos virových patogenů

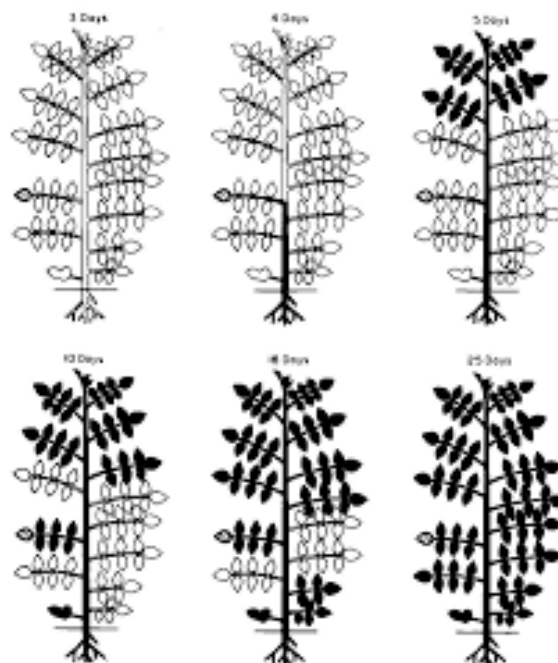
Jak již bylo řečeno, rostlinné viry nemají žádné mechanismy, které by jim umožnily proniknout do hostitelské buňky. Rostlina může být infikována z okolního prostředí díky mechanickému poškození. To může být způsobeno mrazem, silným větrem, deštěm, sestřihem nebo prořezáváním při zahrádkářských úpravách. Nejběžněji je však přenos uskutečňován hmyzími vektory, většinou s bodavě sacím ústním ústrojím, mezi které patří mšice, křísi, molice, červci, třásněnky a některé druhy ploštic. Méně běžný je přenos virů hmyzem s kousacím ústním ústrojím, který probíhá u některých druhů brouků. Viry mohou přenášet také roztoči, prvoci, houby a v půdě žijící háďátka. Dle interakce virus-vektor, může být přenos perzistentní, neperzistentní nebo semiperzistentní. Při neperzistentním přenosu dochází k zachycení virových částic ve stiletu. Virus je pak prakticky přenosný jen po dobu jednoho nebo dvou dalších sání. Pro semiperzistentní přenos je potřeba delší sání z nakažené rostliny a doba infekčnosti vektoru je delší, maximálně však do jeho svlékání. Virus neprochází latentní periodou. Při perzistentním přenosu se dostane až do trávícího traktu mšice, odkud musí proniknout do slinných žláz vektoru, proto je zapotřebí dlouhé sání z infikované rostliny. Doba, kdy prochází viry tělem živočicha, se nazývá celační a hmyz během ní není infekční. Po prodělání inkubace se hmyz stává infekční do konce svého života, dokonce i po proběhnutí svlékání. Speciálním případem perzistentního přenosu jsou viry, které jsou schopné se ve vektoru pomnožit. Hovoříme pak o perzistentně propagativním přenosu. Pokud je ve vektoru virus schopný se pomnožit a zároveň virus předat na potomstvopřes vajíčka, jedná se o přenos perzistentně transovariální.

Při šíření v hostitelské rostlině se virus může dostat i do zárodečných buněk a infikovat tak embryo. Při přenosu pomocí pylu mohou viry embryo infikovat přímo nebo se přenáší na povrchu osemení a mohou infikovat rostlinku při klíčení. Experimentálně se také k přenosu využívají parazitické rostliny rodu Kokotice (*Cuscuta*), které pronikají haustoriemi do cévních

svazků rostlin. Můžeme tak propojit dvě rostliny parazitickou kokoticí. Skrze cévní svazky může virus kolonizovat zdravou rostlinu (Rosypal et al. 2002).

### 3.2.2 Infekce a příznaky

Po pomnožení se virus z místa infekce šíří nejdříve do okolních buněk. Využívá k tomu plazmodezmatické propojení sousedních buněk. Pro toto šíření replikuje pouze nukleovou kyselinu a syntetizuje speciální transportní protein, který pomáhá nukleové kyselině projít mnohem menšími plazmodezmaty. Tento způsob šíření je velice pomalý, proto se jím viry v rostlině mohou šířit jen na krátkou vzdálenost. K systémové infekci je nutné, aby se virus dostal do cévních svazků rostliny a dále floémem, společně s produkty fotosyntézy, do dalších částí rostliny. Infekce se nejprve šíří do míst intenzivního růstu, kam rostlina stahuje organické látky. Jedná se zpravidla o místa kolem vzrostlého vrcholu stonku a kořene. Virus poté postupně infikuje celou rostlinu. O závažnosti projevu infekce rozhoduje genetická výbava jak patogenu, tak hostitele. Nejprve nastává iniciační fáze, při které se objeví první příznaky kolem místa vniknutí viru do rostliny. Následuje fáze akutní, při které dochází k rychlé, masivní reprodukci viru a jeho šíření celou rostlinou. Po určité době se koncentrace virů v rostlině snižuje a nastává fáze chronická. V dalším vývoji často dochází k periodickému střídání fází akutních, s fázemi chronickými až do smrti rostliny. O symptomech rozhoduje vnímavost hostitele vůči patogenu. Pokud je rostlina imunní, není hostitelem daného viru. Při proniknutí viru do rostliny nedochází k jeho množení. Rezistentní rostlina je sice hostitelem viru, ale infekci se na různých úrovních brání. Může zabraňovat, či zpomalovat šíření nebo expresi viru. Opakem rezistentních rostlin jsou rostliny náchylné. V tomto případě se infikovaná rostlina nebrání infekci. Důsledkem je vysoká koncentrace virových částí v pletivech rostliny. U tolerantních rostlin se virus v rostlině množí, ale rostlina vykáže jen slabé nebo vůbec žádné příznaky. V případě nákazy rostliny virem dochází k menším ekonomickým škodám. Opakem tolerantních rostlin jsou rostliny citlivé, které při přítomnosti viru vykazují silné, až destruktivní příznaky. Pokud je rostlina nakažena více viry současně, dochází buď k zesílení symptomů – synergismu, nebo k oslabení – antagonismu. Většinou nedochází k přímé interakci mezi viry. Přímá interakce by byla příčinou vzájemné rekombinace genů. Tyto efekty jsou zprostředkované vztahy mezi viry a hostitelskou rostlinou. (Rosypal et al. 2002).



Obrázek 2 Rozvoj systémové infekce, šíření TMV v rostlinách rajčete  
[i<https://socv2.nidv.cz/archiv33/getWork/hash/309bfe8c-5869-11e0-a844-001e6886262a>](https://socv2.nidv.cz/archiv33/getWork/hash/309bfe8c-5869-11e0-a844-001e6886262a)

### 3.2.3 Obrana rostliny proti virům

Rostliny se brání proti virům především pasivně. Jejich obranný mechanismus tkví především v podobě kutikuly, voskem pokryté buněčné stěny, či jinými úpravami pokožky, které pomáhají zabránit vniknutí patogenu do rostliny. Přesto dokážou některé nakažené rostliny s virem bojovat aktivně, pokud mají tzv. geny rezistence. Těmi jsou kódované receptory, nacházející se v cytoplasmě a v jádře buněk, které dokážou rozpoznat patogen a spustit obranné mechanismy. Tyto receptory umí rozpoznat jen určitý protein konkrétního viru. Pokud patogen projde jen malou mutací a dojde ke změně rozpoznatelného proteinu, celý tento mechanismus se stává nefunkční. Mezi jeden z obranných mechanismů rostliny, zaměřených proti šíření patogena, patří hypersenzitivní reakce. Dochází při ní k odumření místního pletiva nakaženého virem. Za destrukci pletiv jsou zodpovědné kyselé proteiny, označené jako „pathogenesis related proteins“ (PR proteiny), jež se při nákaze shromažďují v mezibuněčných prostorech a zajišťují destrukci pletiv. Patří mezi ně glukanáza, chitináza či peroxidáza (Rosypal et al. 2002).

Jedním z dalších obranných mechanismů je RNA interference. Jedná se o proces, který umožňuje v buňkách regulovat aktivitu genů. Za to je zodpovědná dsRNA, z níž jsou vyštěpovány duplexy malých RNA, většinou o délce 20-25 nukleotidů, za pomoci proteinu zvaného Dicer. Tyto jednovláknové malé RNA, uvolněné z duplexů, asociují s proteinem zvaným Argonaut a navádějí jej, na základě sekvenční komplementarity, k cílové molekule mRNA, kterou mohou štěpit a tím zabraňovat translaci proteinu kódovaného v mRNA. Pokud je pro to rostlina geneticky vybavena, může tímto způsobem vyhledávat a ničit i virovou RNA (Hoffmeisterová 2009).

Jestliže je už rostlina virem nakažena, může dojít k jevu zvanému křížová ochrana (cross protection). V takovém případě je nakažená rostlina chráněna před infekcí virulentnějšího příbuzného kmene. Podstata tohoto jevu není dosud přesně objasněna (Rosypal et al. 2002).

### 3.2.4 Výskyt a škodlivost virových chorob v ČR

V České republice je napadána zelenina z čeledi tykvovitých (*Cucurbitaceae*) především viry: mšicemi přenosný virus žloutenky tykvovitých (CABYV), virus mozaiky okurky (CMV), virus mozaiky tykve (SqMV), virus mozaiky vodního melounu (WMV) a virus žluté mozaiky cukety (ZYMV). Způsobují ztráty na výnosech a snižují tržní jakost plodů. Tyto viry se vyskytují v teplých oblastech celého světa. Do České republiky se dostaly pravděpodobně ze Středozeří přes Rakousko. První nález ZYMV u nás pochází z jižní Moravy v roce 1990 (Svoboda & Polák 2006). Dále Svoboda & Polák (2006) uvádí že „až do roku 1997 byl výskyt ZYMV v České republice omezený na jihomoravské okresy Břeclav a Znojmo. V roce 2001 byl již výskyt ZYMV prokázán ve čtyřech okresech jižní Moravy: Břeclav, Znojmo, Brno a Hodonín. Infikovány byly hlavně okurky nakládačky, cukety a tykev olejná. V následujících letech se virus rozšířil na střední a severní Moravu. V současnosti musíme konstatovat, že se ZYMV rozšířil také do Čech, kde byl zjištěn v okresech Mělník, Litoměřice, Praha-východ a Beroun. Podobný průběh výskytu zaznamenáváme také u SqMV, který se dříve vyskytoval pouze v oblastech jižní Moravy a v současné době bylo zaznamenáno jeho šíření do Čech.“

Mezi hlavní virové patogeny obilnin v České republice patří virus žluté zakrslosti ječmene (BYDV) a virus zakrslosti pšenice (WDV). Oba tyto patogeny mohou způsobit vážné ekonomické škody na úrodě obilnin, za období jejich sledování nabývají střídavě na významu (Venclová 2016). Agromanuál (2018) uvádí že „v letech 2001 a 2002 byly zaznamenány epidemické výskyty infekce BYDV slovo virus je už obsaženo ve zkratce. Po tomto kalamitním poškození porostů BYDV v těchto letech se průběh a poměr jednotlivých infekcí každoročně mění. V rámci sledování provedeného v letech 2004–2008 bylo zjištěno, že WDV převládá u pšenice a BYDV u ječmene. Na jaře 2012 došlo k vyššímu výskytu virových zakrslostí s výraznou převahou WDV především na Moravě.“

Mezi hlavní virové patogeny cukrové řepy patří virus žloutenky řepy (BYV), virus mírného žloutnutí řepy (BMYV) a virus mozaiky řepy (BtMV) (Bittner 2012). Virové žloutnutí řepy způsobované těmito viry se u nás dříve v menší míře vyskytovalo téměř každý rok, s občasným epidemickým výskytem jednou za pět let. Od devadesátých let u nás virové žloutenky téměř úplně vymizely, a to díky používání insekticidního moření osiva látkami ze skupiny neonikotinoidů (thiamethoxam, clothianidin, imidacloprid). V roce 2018 Evropská komise zakázala moření osiv polních plodin insekticidními látkami tohoto druhu, s výjimkou pro Českou republiku na použití osiva cukrovky mořeného látkou thiamethoxam, ještě pro rok 2019 (Agromanuál 2019). Tato výjimka byla dále udělena pro roky 2020 i 2021 (Listy cukrovarnické a řepařské 2020).

### **3.3 BtMV – virus mozaiky řepy (*Beet mosaic virus*)**

Realm: *Riboviria*

Říše: *Orthornavirae*

Kmen: *Pisuviricota*

Třída: *Stelpaviricetes*

Řád: *Patatavirales*

Čeleď: *Potyviriidae*

Rod: *Potyvirus*

Druh: virus mozaiky řepy

(ICTV 2019)

#### **3.3.1 Popis**

Virus mozaiky řepy je řazen do čeledi *Potyviriidae* a do rodu *Potyvirus*. Genom viru se skládá z pozitivní ssRNA. Genetická informace tvoří asi 5 % hmotnosti virionu. Virové částice tohoto rodu jsou pružná vlákna dlouhá 720 nm až 770 nm s kapsidou helikální symetrie. Velikost obalového proteinu se pohybuje od 30 kDa do 35 kDa. Viriony virů tohoto rodu mají hustotu v CSCI asi 1,31 g cm<sup>-3</sup> a sedimentační koeficient  $S_{20,w}$  150–160S (Khan & Dijkstra 2006).

### 3.3.2 Přenos viru

Viry rodu *Potyvirus* jsou nejčastěji přenášeny převážně mšicemi. Jedná se zde výlučně o neperzistentní přenos, kdy je virus přítomen ve stiletu mšice jen krátkou dobu po sání z infikované rostliny. Zachycení virionu na stěně stiletu zajišťují dva speciální pomocné proteiny, kódované virem. Mšice jsou infekční pravděpodobně po dobu 20 až 40 hodin, což odpovídá době jednoho nebo dvou sání. Kromě řepy infikuje virus také mangold a špenát, z čeledi laskavcovitých (*Amaranthaceae*) (Berger et al. 1989).

### 3.3.3 Příznaky

První příznaky se obvykle objevují nejprve na nejmladších listech, kde infekce způsobuje světlejší a tmavší ostrůvky pletiva. Lze je pozorovat několik dní poté, co je rostlina infikována. Později se příznaky rozšiřují na ostatní listy. Projevují se vybledlou žilnatinou a světle zelenými skvrnami nepravidelného tvaru. V kombinaci se zdravými zelenými částmi, získá list mozaikový vzhled. V případě silného napadení se listy zvlní a mají krátký řapík. Výjimečně se mohou objevit vybledlé kroužky, které později ve svém středu nekrotizují. Nekrotický střed později vypadává a v listu vzniknou dírký (Kazda 2003).

### 3.3.4 Ochrana

Jak již bylo řečeno, BtMV je virus neperzistentně přenosný mšicemi. Mezi nejčastější vektory patří: kyjatka hrachová (*Acyrtosiphon pisum*), mšice maková (*Aphis fabae*), kyjatka zahradní (*Macrosiphum euphorbiae*), kyjatka travní (*Metopolophium dirhodum*), mšice broskvoňová (*Myzus persicae*) a mšice stěmchová (*Rhopalosiphum padi*) (Sylvester 1952).

Jelikož virem již nakažené rostliny nedokážeme léčit, snažíme se především předejít nákaze preventivními opatřeními. V běžné produkci využíváme zejména komplexní ochranu, zaměřenou na boj proti vektorům viru. Tato ochrana kombinuje metody chemické společně s agrotechnickými opatřeními. Chemická ochrana je zaměřená na postřiky insekticidy, které ovšem nezabraňují neperzistentnímu přenosu choroby. Dokáží pouze regulovat populaci mšic. K přenosu viru stačí jen krátká doba sání mšice na napadené rostlině. Mšice, před samotným přísátím, provádí sérii zkusných vpichů na základě nichž, se snaží vybrat nejlepší rostlinu a místo pro sání. Neperzistentní přenos probíhá především těmito zkusnými vpichy. K přenosu viru dochází dříve, než stihne být insekticidní přípravek aplikován a dokáže působit na populaci mšic. Mezi agrotechnická ochranná opatření patří včasný výsev plodiny a vytvoření podmínek pro rychlý vývoj rostlin tak, aby první nálet mšic zasáhl co nejstarší, a pro mšice méně atraktivní rostliny. Starší rostliny jsou zároveň daleko odolnější a lépe snáší případnou nákazu (Kazda 2003).



## 3.4 BYV – virus žloutenky řepy (*Beet yellows virus*)

Realm: *Riboviria*

Říše: *Orthornavirae*

Kmen: *Kitrinoviricota*

Třída: *Alsuviricetes*

Řád: *Martellivirales*

Čeleď: *Closteroviridae*

Rod: *Closterovirus*

Druh: virus žloutenky řepy

(ICTV 2019)

### 3.4.1 Popis

BYV, neboli virus žloutenky řepy řadíme do čeledi *Closteroviridae*, dále pak do rodu *Closterovirus*. Genom virů této čeledi se skládá z pozitivní ssRNA. Nukleová kyselina tvoří 5–6 % hmotnosti virionu. Viry patřící do této čeledi mají kapsidu se spirální symetrií, zpravidla válcovitého tvaru a spirálovitě stočená vlákna s roztečí primární spirály v rozmezí 3,4–3,8 nm, která obsahují přibližně 10 proteinových podjednotek na jedno otočení spirály a centrálním otvorem o průměru 3–4 nm. Celkový průměr virionu je asi 12 nm a dosahuje délky od 650 nm do 2000 nm v závislosti na délce genomu viru (ICTV 2020).

### 3.4.2 Přenos viru

U BYV dochází k semiperzistentnímu způsobu přenosu. Virus je přenášen asi dvaceti druhy mšic. Mezi nejčastější přenašeče patří mšice broskvoňová (*Myzus persicae*), mšice maková (*Aphis fabae*), mšice česneková (*Myzus ascalonicus*) a kyjatka zahradní (*Macrosiphum euphorbiae*). Mšice musí sát na nakaženou rostlinu minimálně 15 minut, aby se stala infekční. Neexistuje období latence, mšice je schopna virus přenést okamžitě po nabývacím sání z nakažené rostliny. Pro přenos viru na zdravou rostlinu stačí sání délky 7–15 minut. S delším sáním se možnost přenosu zvyšuje. Mšice není infekční po celý svůj život. Při svlékání svoji infekčnost ztrácí (Bittner 2012).

Hlavními zdroji infekce vektorů jsou různé druhy plevelných rostlin, na kterých virus přezimuje. Mezi tyto plevele patří kokoška pastuší tobolka (*Capsella bursa pastoris*), starček obecný (*Senecio vulgaris*) a rozrazil (*Veronica* spp.). K přezimování viru může také docházet na semenných porostech cukrovky (Kazda 2001). Přenos osivem nebo pylem není možný. Mechanický přenos viru byl jen s obtížemi prokázán v laboratorních podmínkách (Khan & Dijkstra 2006).

### 3.4.3 Příznaky

První příznaky se u cukrové řepy začínají objevovat po třech až čtyřech týdnech od infekce rostliny. Mezi tyto příznaky patří postupné žloutnutí listu od místa infekce, až zežloutne celý list mezi žilnatinou. V okolí žilnatiny zůstává pletivo zelené. Později se mohou vyskytnout hnědé až černé nekrotické skvrny. U silně patogenních kmenů se může vyskytnout žluté lemování žilek (Bittner 2012). Napadené listy se stávají křehkými, předčasně odumírají, nebo se stávají náchylnými pro napadení padlím a houbami rodu *Alternaria* (Kazda 2001). BYV má výrazné účinky na fyziologii cukrové řepy a významně snižuje růst rostliny. Celkový výnos bulev klesá o cca 20-30 % a cukernatost o 1–2 %. Tyto účinky jsou způsobeny chlorózou listů, jejímž důsledkem je pokles celkové fotosyntézy. Výskyt příznaků napadení v porostu je v ohniscích. Velikost ohnisek je závislá na letové aktivitě mšic. Příznaky se objevují, dle doby přenosu, koncem června a v průběhu července (Bittner 2012).

### 3.4.4 Ochrana

Při ochraně rostlin proti BYV využíváme především chemickou ochranu. Viry se v porostu šíří ohniskovitě, sekundární infekcí od primárně infikovaných rostlin (Bittner & Běhal 2010). Dříve používané neonikotinoidní moření, které bylo na základě rozhodnutí Evropské komise zakázáno (Agromanuál 2018), dokázalo rostlinu ochránit proti napadení vektory v prvních týdnech po vzejití, kdy jsou rostliny nejnáchylnější a často tak zabránit primární infekci v porostu. V současné době spočívá ochrana především v likvidaci mšic jako vektorů viru, pomocí postřiků účinnými insekticidy (karbamáty a pyretroidy), jež zabrání šíření virů v porostu, a to jak primární, tak sekundární infekcí. Mezi agrotechnická ochranná opatření patří včasný výsev plodiny a vytvoření podmínek pro rychlý vývoj rostlin tak, aby rostliny řepy byly v období hlavního náletu mšic ve fázi, kdy jsou méně náchylné k infekci viru (více než 16 pravých listů) (Bittner & Běhal 2010).

## 3.5 BMYV – virus mírného žloutnutí řepy (*Beet mild yellowing virus*)

Realm: *Riboviria*

Říše: *Orthornavirae*

Kmen: *Kitrinoviricota*

Třída: *Tolucaviricetes*

Řád: *Tolivirales*

Čeleď: *Luteoviridae*

Rod: *Polerovirus*

Druh: virus mírného žloutnutí řepy

(ICTV 2019)

### 3.5.1 Popis

Virus mírného žloutnutí řepy řadíme do čeledi *Luteoviridae* a do rodu *Polerovirus*. Viry této čeledi mají genetickou informaci uloženou v ssRNA s pozitivní polaritou. Velikost genomu se u této čeledi pohybuje v rozmezí od 5,6 kb do 6,0 kb. Viriony mají průměr 25 až 30 nm. Kapsida se skládá ze 180 podjednotek, uspořádaných v  $T = 3$  ikosaedrální symetrii. Sedimentační koeficient činí 106–127 S a stoupající hustota je 1.39–1.42 g cm<sup>-3</sup> v ClCs. Virové částice neobsahují lipidy, ani sacharidy. Částice luteoviru jsou necitlivé na zmrazení, ošetření chloroformem nebo neiontovými detergenty. Naopak jsou narušeny dlouhodobým působením vysokých koncentrací solí (ICTV 2009).

### 3.5.2 Přenos viru

Virus mírného žloutnutí řepy je přenášen perzistentním způsobem. Po nabývacím sání z nakažené rostliny prochází vektor latentní periodou o délce 24–72 hodin, kdy není infekční. Během této doby se virus dostává z trávicího traktu do slinných žláz mšice. Mšice se stává infekční až po uplynutí této latentní periody. Virus se v těle mšice nemnoží, zároveň přenos na potomstvo vektoru není možný. Virus v těle mšice cirkuluje v různých koncentracích do konce jejího života. Takto nakažená mšice zůstává infekční po celý svůj život. Možnost přenosu viru může nastat již po 30 minutách sání, ale většinou se tak děje během delší doby. BMVYV je nejčastěji přenášen mšicí broskvoňovou (*Myzus persicae*), může jej přenášet i mšice maková (*Aphis fabae*) nebo kyjatka zahradní (*Macrosiphum euphorbiae*). Hlavními zdroji infekce vektorů jsou různé druhy plevelných rostlin. Mezi tyto plevele patří kokoška pastuší tobolka (*Capsella bursa pastoris*), starček obecný (*Senecio vulgaris*) a rozrazil (*Veronica* spp.). K přezimování viru může docházet také na semenných porostech cukrovky (Kazda 2001). Přenos viru osivem nebo mechanicky není možný (Khan & Dijkstra 2006).

### 3.5.3 Příznaky

Počáteční příznaky napadení virem mírného žloutnutí řepy jsou difuzní chlorotické skvrny mezi žilnatinou na starších, plně vyvinutých listech. Skvrny se postupně rozšiřují a propojují, zlatožlutá barva může postupně přecházet až ve žlutooranžovou. Napadené listy se stávají křehkými, předčasně odumírají nebo jsou náchylné pro napadení padlím a houbami rodu *Alternaria*, jež působí rozsáhlé nekrózy na listech.

Příznaky BMVYV a BYV jsou velmi podobné a rostliny často bývají nakažené oběma viry současně. Proto rozlišení těchto dvou virů pouze na základě příznaků není možné. K determinaci virů, působících žloutnutí řepy se v současnosti používá především serologická diagnostika (ELISA) s využitím polyklonálních i monoklonálních protilátek. Další možností je využití indikátorových rostlin *Claytonia perfoliata* (BYV i BMVYV), *Capsella bursa-pastoris* (BMVYV), či *Chenopodium foliosum* (BYV) (Bittner 2012).

### 3.5.4 Ochrana

Stejně jako BYV se i virus mírného žloutnutí řepy šíří v porostu ohniskovitě od primárně infikovaných rostlin. K sekundární infekci dochází jak přeletem okřídlených jedinců, tak i bezkřídlymi mšicemi, které mohou přecházet mezi rostlinami v zapojeném porostu. Intenzita výskytu virových žloutenek závisí na četnosti zdrojů infekce (porůstající řepné skrojky,

hostitelské plevelu) a na intenzitě a časnosti náletů mšic. Ochrana spočívá hlavně v likvidaci mšic jako vektorů pomocí postřiků účinnými insekticidy (karbamáty a pyreroidy), jež zabrání šíření virů v porostu, a to jak primární, tak sekundární infekci. Z hlediska fyto-sanitárního je vhodné důsledné zapracování posklizňových zbytků pomocí hluboké orby. Mezi agrotechnická ochranná opatření patří včasný výsev plodiny a vytvoření podmínek pro rychlý vývoj rostlin tak, aby rostliny řepy byly v období hlavního náletu mšic ve fázi, kdy jsou méně náchylné k infekci viry (více než 16 pravých listů) (Bittner & Běhal 2010).

### **3.6 CABYV – mšicemi přenosný virus žloutenky tykvovitých (*Cucurbit aphid-borne yellows virus*)**

Realm: *Riboviria*

Říše: *Orthornavirae*

Kmen: *Kitrinoviricota*

Třída: *Tolucaviricetes*

Řád: *Tolivirales*

Čeleď: *Luteoviridae*

Rod: *Polerovirus*

Druh: mšicemi přenosný virus žloutenky tykvovitých

(ICTV 2019)

#### **3.6.1 Popis**

CABYV, neboli mšicemi přenosný virus žloutenky tykvovitých, je virus z čeledi *Luteoviridae* a rodu *Polerovirus*. Genom virů této čeledi je tvořen ssRNA s pozitivní polaritou. Kapsida se skládá ze 180 podjednotek uspořádaných v T = 3 ikosaedrální symetrii. Virion CABYV dosahuje velikosti cca 25 nm v průměru. Genom viru byl kompletně sekvencován a obsahuje 5669 nukleotidů. Obsahuje šest otevřených čtecích rámců (ORF), oddělených intergenní oblastí (IR). Virové částice neobsahují lipidy ani sacharidy. Nejsou citlivé na zmrazení, ošetření chloroformem nebo neiontovými detergenty, ale jsou naopak narušeny dlouhodobým působením vysokých koncentrací solí (ICTV 2009).

#### **3.6.2 Přenos viru**

CABYV je přenášen především mšicemi perzistentním způsobem přenosu. Virus se v těle mšice nemnoží, zároveň přenos na potomstvo vektoru není možný. Mezi hlavní přenašeče patří mšice broskvoňová (*Myzus persicae*) a kyjatka zahradní (*Macrosiphum euphorbiae*). Oba druhy vektorů mšic jsou rozšířené po celé Evropě, avšak sám virus nejvíce v jižních částech Evropy, kde mají vektoři dobré podmínky pro přežití zimního období. Mezi hlavní hostitele viru patří okurky, dýně a melouny. Virus může infikovat také hlávkový salát a krmnou řepu. Dále pak i plevelné rostliny, které se stávají hlavními rezervoáry nákazy mšic. Patří mezi ně hluchavka

objímavá (*Lamium amplexicaule*), kokoška pastuší tobolka (*Capsella bursa-pastoris*), tykvice stříkavá (*Ecballium elaterium*) a merlík zední (*Chenopodium murale*) (CABI 2020). Přenos u virů z rodu *Polerovirus* není mechanicky možný (Khan & Dijkstra 2006).

### 3.6.3 Příznaky

Počáteční příznaky napadení se projevují jako malé chlorotické skvrny na listech, které se spojují a postupně dochází k chloróze celého listu. Napadené listy zesílí a stávají se křehkými. Příznaky se zpravidla objevují na starších listech rostliny, ale u citlivějších rostlin se mohou objevit i na mladších listech. Kromě toho je často pozorována snížená tvorba květů, která má za následek snížení počtu plodů a následného výnosu (LfL Pflanzenschutz 2020).

Na plodech nebyly zaznamenány žádné příznaky. Jejich kvalita není snížena vlivem napadení rostliny virem. U okurek a cuket může dojít k redukci výnosu až o 50 %, u melounů jsou ztráty mnohem nižší. Pohybují se okolo 10 % – 15 % (CABI 2020).

### 3.6.4 Ochrana

Ochrana proti CABYV je tvořena souborem preventivních opatření, které mají za cíl snížit pravděpodobnost infekce rostlin a zabránit jejímu šíření v porostu. Mezi tato opatření patří likvidace plevelných rostlin, které se mohou stát zdrojem nákazy vektorů. Doporučuje se také likvidace nemocných rostlin v porostu, pokud jsou příznaky viru jasně viditelné. Dalším důležitým opatřením je boj proti vektorům viru pomocí insekticidních přípravků. Mladé rostlinky můžeme chránit před přístupem vektorů přikrytím netkanými textiliemi. Později je nutné textilie odstranit, aby byl umožněn vstup opylovačům. Jedním z nejúčinnějších opatření je používání rezistentních odrůd, které existují u okurek, melounů a dýní. I tak je však nutné provádět již zmíněná preventivní opatření a snížit tak riziko prolomení rezistence patogenem (CABI 2020).

## 3.7 CMV – virus mozaiky okurky (*Cucumber mosaic virus*)

Realm: *Riboviria*

Říše: *Orthornavirae*

Kmen: *Kitrinoviricota*

Třída: *Alsuviricetes*

Řád: *Martellivirales*

Čeleď: *Bromoviridae*

Rod: *Cucumovirus*

Druh: virus mozaiky okurky

(ICTV 2019)

### 3.7.1 Popis

Virus CMV řadíme do čeledi *Bromoviridae*, dále pak do rodu *Cucumovirus*. Genetická informace viru je uložena jako pozitivní ssRNA. CMV má tripartitní genom složený ze tří molekul RNA. Každá molekula nese 5' koncovku a na 3' konci obsahuje strukturu podobnou tRNA. Molekuly RNA<sub>1,2,3</sub>, jsou samostatně uzavřeny ve třech částicích. Viriony mají kulovitý tvar o průměru 29 nm. Kapsida se skládá z podjednotek uspořádaných v T = 3 ikosaedrální symetrii. U virových částic nebyla zjištěna přítomnost lipidů ani sacharidů. CMV je náchylný k rekombinaci a vykazuje vysokou genetickou rozmanitost mezi izoláty, které jsou dosud sekvencovány. Na základě údajů o nukleotidové sekvenci je CMV rozdělen do podskupin I a II (ICTV 2019).

### 3.7.2 Přenos viru

CMV má celosvětovou distribuci a velmi široký rozsah hostitelů. Jedná se o nejrozšířenější rostlinný virus z hlediska možných hostitelských druhů. Může infikovat více než 1200 rostlinných druhů. Je přenášen neperzistentním způsobem více než 80 různými druhy mšic. Nejvýznamnějšími přenašeči jsou: mšice broskvoňová (*Myzus persicae*) a mšice bavlníková (*Aphis gossypii*). Experimentálně se CMV snadno přenáší mechanicky. K nákaze dochází skrze mechanická poranění rostlin. CMV není příliš stabilní virus. V infikované rostlinné šťávě, ve vnějším prostředí, dokáže přežít jen velmi krátkou dobu. Mechanický přenos je proto v polních podmínkách méně častý (APPS 2009). Byl zaznamenán přenos viru semeny (Khan & Dijkstra 2006).

### 3.7.3 Příznaky

Příznaky způsobené virem mozaiky okurky se mohou značně lišit v závislosti na infikované plodině a jejím stáří. Rostliny infikované na počátku sezóny jsou silně zakrnělé. Na mladých listech se často objevují mozaikovitě světle žluté skvrny, které se mohou vyvinout v difúzní chlorotické léze. U napadených rostlin se může objevit i kadeření listové čepele. Na starších listech vznikají nekrotické skvrny kruhového nebo nepravidelného tvaru. Na plodech se infekce virem CMV projevuje jejich menší velikostí, vznikem tmavě zelených skvrn a nepravidelně zřaseným a zdrsňelým povrchem. Vyskytují se také léze s nekrotizovaným středem. V průměru se pohybují běžné ztráty okolo 10-20 %. V některých případech může být plodina i tak sklizena, ale má horší kvalitu a vzhled (Agrios 2005).

### 3.7.4 Ochrana

Nejúčinnějším způsobem ochrany rostlin proti CMV je využívání rezistentních odrůd, doplněných souborem preventivních opatření, zajišťujících snížení pravděpodobnosti rizika prolomení rezistence patogenem. Úspěch v nalezení genetické rezistence byl zaznamenán zejména u okurky a špenátu. Rezistence u špenátu je řízena jedním dominantním genem v odrůdě Virginia Savoy. Tento gen byl začleněn do mnoha současných odrůd. Rezistence okurek (*Cucumis sativus*) proti CMV byla odvozena od orientálních odrůd "Chinese Long" a "Tokyo Long Green". Je založena na několika genech rezistence, díky čemuž je účinná po mnoho

desetiletí. Mezi preventivní ochranná opatření patří likvidace plevelných rostlin, které se mohou stát zdrojem nákazy vektorů, popřípadě likvidace nakažených rostlin v porostu, pokud jsou příznaky viru jasně viditelné (APPS 2009).

### **3.8 SqMV – virus mozaiky tykve (*Squash mosaic virus*)**

Realm: *Riboviria*

Říše: *Orthornavirae*

Kmen: *Pisuviricota*

Třída: *Pisoniviricetes*

Řád: *Picornavirales*

Čeleď: *Secoviridae*

Podčeleď: *Comovirinae*

Rod: *Comovirus*

Druh: virus mozaiky tykve

(ICTV 2019)

#### **3.8.1 Popis**

Virus SqMV řadíme do podčeledi *Comovirinae* a do rodu *Comovirus*. Virion dosahuje velikosti asi 30 nm v průměru. Genetická informace viru je uložena jako pozitivní ssRNA. Genom viru je bipartitního charakteru, obě RNA jsou zapouzdřeny v oddělených virionech. Mohou se vykytovat i prázdné virové částice, neobsahující genetickou informaci. Kapsida vykazuje T=1 ikosahedrální symetrii a je tvořena dvěma kapsidovými proteiny o velikosti CP1: 40–45 kDa a CP2: 21–27 kDa. Genom viru byl kompletně sekvencován a obsahuje 9219 nukleotidů. SqMV se dělí na dva sérotypy (SqMV-I) a (SqMV-II), které se liší v rozsahu hostitelů a patogenitě. Kmen (SqMV-I) vyvolává závažné příznaky na melounech, ale mírné příznaky na tykvích, zatímco kmen (SqMV-II) vyvolává nápadné příznaky na tykvích, ale mírné příznaky na melounech (ICTV 2019).

#### **3.8.2 Přenos viru**

Virus SqMV je rozšířen po celém světě. Jeho hostiteli jsou zejména rostliny z čeledi tykvovitých (*Cucurbitaceae*). Virus je přenášen především býložravými brouky. K infekci dochází skrze jejich sliny. Brouci získávají virus žírem na infikované rostlině a mohou jej přenášet po dobu dalších dvaceti dnů. Na rozdíl od jiných mozaikových virů, není tento virus přenosný mšicemi. U melounů je prokázáno šíření viru semeny. SqMV se v laboratorních podmínkách snadno přenáší očkováním. Běžný je mechanický přenos viru v polních podmínkách. Virové částice dokáží přežít mimo rostlinu v infekční šťávě, pocházející z

infikovaných rostlin, až čtyři dny. Mechanický přenos je pak možný díky častým vstupům do porostu a následnému poškozování rostlin mechanizací nebo sběrem plodů (Agrios 2005).

### 3.8.3 Příznaky

Příznaky způsobené virem SqMV jsou velice variabilní. Značnou mírou je ovlivňuje hostitelská rostlina, její stáří a kmen SqMV. Z tohoto důvodu nelze virus identifikovat pouze na základě příznaků. K přesné diagnostice viru je zapotřebí provedení serologického testu (ELISA). Častými příznaky na listech jsou tmavě zelené mozaiky, tvorba puchýřů, kroucení listů a chlorotické skvrny. Mladé listy často vykazují nejzávažnější příznaky a dosahují mnohem menších velikostí než listy zdravých rostlin. Rovněž mohou být ovlivněny plody infikovaných rostlin skvrnitostmi nebo deformacemi (CABI 2020).

### 3.8.4 Ochrana

Ochrana proti SqMV je tvořena souborem preventivních opatření, které mají za cíl snížit pravděpodobnost nákazy virem, popřípadě omezit jeho šíření v porostu. Mezi tato opatření patří používání certifikovaného, viruprostého osiva a likvidace plevelných rostlin, které se mohou stát zdrojem nákazy vektorů. Dále se doporučuje likvidace jedinců v porostu, kteří nesou jasné příznaky nákazy virem. Důležitá je také kontrola populace brouků pomocí insekticidních přípravků (CABI 2020).

## 3.9 WMV – virus mozaiky vodního melounu (*Watermelon mosaic virus*)

Realm: *Riboviria*

Říše: *Orthornavirae*

Kmen: *Pisuviricota*

Třída: *Stelpaviricetes*

Řád: *Patatavirales*

Čeleď: *Potyviriidae*

Rod: *Potyvirus*

Druh: virus mozaiky vodního melounu

(ICTV 2019)

### 3.9.1 Popis

WMV řadíme do čeledi *Potyviriidae*, dále pak do rodu *Potyvirus*. Viry tohoto rodu mají hustotu v CSCI asi  $1,31 \text{ g cm}^{-3}$  a sedimentační koeficient  $S_{20,w}$  137–160S. Viriony mají tvar ohebných vláken. S helikální symetrií dosahují délky 680–900 nm a průměru 11–13 nm. Genetická informace viru je uložena v jednom vlákně pozitivního ssRNA, jež tvoří asi 5 %



hmotnosti virionu. RNA je chráněno jednovrstevným kapsidovým proteinem (CP) 30–47 kDa (ICTV 2019).

### 3.9.2 Přenos viru

WMV je rozšířen po celém světě. Jeho hostiteli jsou zejména rostliny z čeledi tykvovitých (*Cucurbitaceae*), mnoho druhů luskovin a dalších rostlin, jako např. mrkev (*Daucus carota*) a špenát (*Spinacia oleracea*). Přenáší se neperzistentním způsobem více než 38 různými druhy mšic. Nejvýznamnějšími přenašeči jsou mšice broskvoňová (*Myzus persicae*) a mšice bavlníková (*Aphis gossypii*). Mechanický přenos viru v polních podmínkách je také možný díky častým vstupům do porostu a následnému poškozování rostlin mechanizací nebo sběrem plodů (Agrios 2005).

### 3.9.3 Příznaky

Příznaky způsobené virem WMV jsou značnou mírou ovlivněny hostitelskou rostlinou a stářím hostitelské rostliny v době infekce. Prvním příznakem je slabé žloutnutí listu v místě infekce virem, později se objevuje chloróza na krajích listů. Často dochází i ke žloutnutí žilnatiny a nepravidelnému žloutnutí prostoru mezi žilnatinou, což dodává listu charakteristický mozaikový vzhled. Mladé listy se obvykle deformují. Dosahují menší velikostí než listy zdravých rostlin a vytvářejí se na nich puchýře. Plody dorůstají menších rozměrů. Obvykle se na nich objevuje skvrnitost a mají bradavičnatý vzhled. Chuť není významně ovlivněna, ale takto napadené plody bývají neprodejné (CABI 2020).

### 3.9.4 Ochrana

Ochrana proti WMV je tvořena souborem preventivních opatření, které mají za cíl snížit pravděpodobnost infekce rostlin a její šíření v porostu. Mladé rostlinky můžeme chránit před přístupem vektorů přikrytím netkanými textiliemi. Mezi další preventivní ochranná opatření patří likvidace plevelných rostlin, které se mohou stát zdrojem nákazy vektorů, popřípadě likvidace nakažených rostlin v porostu, jestliže jsou patrné příznaky napadení virovým onemocněním. Střídání hostitelských a nehostitelských plodin v osevním postupu také snižuje riziko výskytu viru. Důležitá je ale i kontrola populace mšic pomocí insekticidních přípravků (CABI 2020).

### **3.10 ZYMV – virus žluté mozaiky cukety (*Zucchini yellow mosaic virus*)**

Realm: *Riboviria*

Říše: *Orthornavirae*

Kmen: *Pisuviricota*

Třída: *Stelpaviricetes*

Řád: *Patatavirales*

Čeleď: *Potyviriidae*

Rod: *Potyvirus*

Druh: virus žluté mozaiky cukety

(ICTV 2019)

#### **3.10.1 Popis**

ZYMV řadíme, stejně jako WMV, do čeledi *Potyviriidae*, a do rodu *Potyvirus*, který byl již blíže charakterizován v kapitole zabývající se virem WMV. ZYMV byl poprvé zaznamenán v roce 1973 v jižní Evropě. K první epidemiím viru došlo v letech 1979–1980. Následně se rychle šířil a v roce 1996 byl již rozšířen celosvětově, a to ve všech oblastech, kde se pěstují rostliny z čeledi tykvovitých (*Cucurbitaceae*). Viry ZYMV a WMV si jsou velmi podobné příznaky i oblastmi výskytu. Často se také společně vyskytují ve směsných infekcích (Caciagli 2008).

#### **3.10.2 Přenos viru**

Virus ZYMV postihuje, na rozdíl od WMV, především rostliny z čeledi tykvovitých (*Cucurbitaceae*). Přenáší se neperzistentním způsobem, více než 38 různými druhy mšic, včetně mšice broskvoňové (*Myzus persicae*) a mšice bavlníkové (*Aphis gossypii*). U ZYMV je možný také mechanický přenos. K šíření dochází při kontaktu mízy z infikovaných rostlin s poraněnými zdravými rostlinami. Virus se v menší míře přenáší i semeny (CABI 2020).

#### **3.10.3 Příznaky**

ZYMV způsobuje závažné virové onemocnění, způsobující velké ztráty na výsledných výnosech, které mohou dosahovat až 95 %. Příznaky, způsobené virem, jsou značnou mírou ovlivněny hostitelskou rostlinou, kmenem viru a stářím hostitelské rostliny v době infekce. U listů dochází k výraznému žloutnutí, které má mozaikovitý charakter. Objevují se na nich puchýře a mívají často deformovaný tvar. Infikované rostliny jsou zakrslého vzrůstu. Plody nakažených rostlin bývají zakrnělé, zkroucené a na povrchu plodu se vyskytují různé výčnělky puchýřů a jiné deformace. Zabarvení plodů je často velice nepravidelné, mohou se objevovat i žluté skvrny. Plody, vykazující zmíněné příznaky, se tak stávají neprodejnými (appsnet 2010).

### 3.10.4 Ochrana

Preventivní opatření, snižující pravděpodobnost šíření viru, zahrnují: používání viruprostého osiva nebo sadby a likvidaci plevelných rostlin, které se mohou stát zdrojem nákazy vektorů. Dále pak likvidaci takových rostlin v porostu, které nesou patrné příznaky napadení virovým onemocněním. Účinným opatřením je i výsev pásu vysoké plodiny, která zároveň není hostitelskou rostlinou pro ZYMV a má rychlejší počáteční vývoj než hlavní plodina kolem pozemku. U neperzistentního přenosu mšice často přichází o svou infekčnost při průchodu těmito pásy. Střídání plodin hostitelských a nehostitelských v osevním postupu. Pokud se tak nestane, mělo by se zajistit alespoň odstranění starých rostlin z pozemku. Nejúčinnějším preventivním opatřením je používání rezistentních odrůd, pokud jsou k dispozici, přičemž je důležité neopomíjet již zmíněná preventivní opatření, aby nebyla virem prolomena rezistence (apsnet 2009).

## 3.11 BaYDV – virus žluté zakrslosti ječmene (*Barley yellow dwarf virus*)

Realm: *Riboviria*

Říše: *Orthornavirae*

Kmen: *Kitrinoviricota*

Třída: *Tolucaviricetes*

Řád: *Tolivirales*

Čeleď: *Luteoviridae*

Rod: *Luteovirus*

Druh: virus žluté zakrslosti ječmene

(ICTV 2019)

### 3.11.1 Popis

BaYDV řadíme do čeledi *Luteoviridae* a do rodu *Luteovirus*. Genetická informace viru je uložena jako pozitivní ssRNA. Viriony této čeledi mají obvykle velikost o průměru okolo 25 až 30 nm. Kapsida viru se skládá ze 180 podjednotek uspořádaných v T = 3 ikosahedrál ní symetrii. Sedimentační koeficient viru činí 106–118 S a stoupající hustota 1.39–1.40 g cm<sup>-3</sup> v CsCl. Virové částice neobsahují lipidy ani sacharidy. Velikost genomu se pohybuje od 5677 do 5964 nukleotidů, v závislosti na sérotypu viru. Celkem bylo popsáno šest sérotypů viru žluté zakrslosti ječmene. Viriony jsou necitlivé na zmrazení a ošetření chloroformovými nebo neiontovými detergenty, ale poškozují je teploty vyšší než 65 °C a dlouhodobé působení vysokých koncentrací solí (ICTV 2019).

### 3.11.2 Přenos viru

Žlutá zakrslost ječmene je choroba postihující především rostliny z čeledi lipnicovitých (*Poaceae*). Z kulturních druhů BYDV napadá například ječmen, pšenici, oves a z nekulturních pak jílek, sveřep nebo lipnici. Virus je přenosný mšicemi perzistentním cirkulativním způsobem. Přenos na potomstvo však není u mšic možný. Podílí se na něm více než 25 různých druhů mšic, včetně mšice střemchové (*Rhopalosiphum padi*), mšice kukuřičné (*Rhopalosiphum maidis*), kyjatky osenní (*Sitobion avenae*), a kyjatky travní (*Metopolophium dirhodum*). Virus není přenášen mechanicky ani osivem (Agromanuál 2017).

### 3.11.3 Příznaky

Žlutá zakrslost ječmene je choroba, která způsobuje velké ztráty na výsledných výnosech. Na rostlinách nakažených virem lze pozorovat stagnaci růstu nadzemní i podzemní části rostliny v důsledku ucpání cévních svazků. Dochází k poruchám metání. Jejich květy jsou sterilní a nevytváří semena. Výsledkem je značné redukování počtu klasů a následného výnosu. Při napadení virem dochází ke žloutnutí, až červenání listů. Žloutnutí začíná od špiček, okrajů listů a vytváří skvrny, které postupně pokryjí celou čepel. Změna barvy listu je způsobená nekrózami floému, které mohou způsobit až odumření celé rostliny (Chrpová et al. 2017).

### 3.11.4 Ochrana

V běžné produkci využíváme především komplexní ochranu zaměřenou na boj proti vektorům viru. Tato ochrana kombinuje metody chemické, společně s agrotechnickými opatřeními. Chemická ochrana spočívá hlavně ve včasné likvidaci mšic, jako vektorů, pomocí postřiků účinnými insekticidy (karbamáty a pyretroidy). Mezi agrotechnická opatření patří nejčastěji pozdní výsev ozimých forem a časný výsev jarních forem plodin tak, aby se rané fáze vývoje plodiny vyhnuly období aktivity mšic. Mezi nejvýznamnější zdroje infekce patří zanechané výdroly a nekulturní druhy z čeledi lipnicovitých (*Poaceae*). Proto je důležitá také likvidace zaplevelujících rostlin, vzešlých z výdrolu herbicidy a včasná podmínka před tím, než se infekce stačí přenést na nové výsevy. V případě BYDV můžeme použít i rezistentní odrůdy (Chrpová et al. 2017).

## 3.12 WDV – virus zakrslosti pšenice (*Wheat dwarf virus*)

Realm: *Monodnaviria*

Říše: *Shotokuvirae*

Kmen: *Cressdnaviricota*

Třída: *Repensiviricetes*

Řád: *Geplafuvirales*

Čeled': *Geminiviridae*

Rod: *Mastrevirus*

Druh: virus zakrslosti pšenice

(ICTV 2019)

### 3.12.1 Popis

WDV řadíme do čeledi *Geminiviridae*, dále pak do rodu *Mastrevirus*. Tato čeled' byla pojmenována podle typického tvaru virové částice, která se skládá ze dvou spojených kapsid s  $T = 1$  kvazi-ikosaedrální symetrií. Genom viru má bipartitní charakter. Každá ze dvou částí obsahuje jednu nebo dvě molekuly kruhové ssDNA. Velikost virionů této čeledi se pohybuje okolo 18-20 nm x 30-35 nm. Sedimentační koeficient viru činí 75 S a stoupající hustota je 1,35 g cm<sup>-3</sup> v CsCl (Khan & Dijkstra 2006). Velikost genomu se pohybuje od 2600 do 2800 nukleotidů v závislosti na kmenu viru. Jednotlivé kmeny jsou členěny dle hostitelské rostliny, například kmen ječný (WDV-B) nebo kmen pšeničný (WDV-W) (ICTV 2017).

### 3.12.2 Přenos viru

Virus zakrslosti pšenice postihuje především rostliny z čeledi lipnicovitých. U kulturních druhů napadá například pšenici, ječmen, kukuřici, žito, oves, triticales, a také některé druhy trav, například jílky, lipnici roční, chundelku, metlici a sveřepy. Virus je přenášen křískem polním (*Psammotettix alienus*) dospělci i nymfami, perzistentním cirkulativním způsobem. V těle vektora se nemnoží a není přenosný z dospělého na potomstvo. Nešíří se mechanickým poškozením, ani osivem. Zatímco u bezkřídlých nymf dochází pouze k lokálnímu šíření, u okřídlených dospělců se nákaza může šířit i dálkově. Křísce se běžným pozorováním v porostu špatně rozpoznávají, při vyrušení rychle odskakují (Agromanuál 2017).

### 3.12.3 Příznaky

Nejčastějším příznakem WDV bývá zakrslost způsobená omezením dlouhivého růstu rostliny. Mezi další příznaky patří odumírání terminálního listu, poté i zbytku odnože. Vyskytovat se může žloutnutí listů od špiček. Někdy dochází až k červenaní, deformacím nebo prohýbání listů. Napadené rostliny mají většinou slabší kořenový systém. Intenzita příznaků

závisí na růstové fázi rostlin v období infekce. Infekce v časných vývojových fázích vyvolává nejzávažnější příznaky onemocnění, spojené s citelnými ztrátami na výnosech. U později infikovaných rostlin není průběh tak výrazný (Agromanuál 2017).

### **3.12.4 Ochrana**

Ochrana proti virové zakrslosti pšenice tvoří především soubor preventivních opatření, snižujících pravděpodobnost nákazy rostlin a její šíření v porostech. Mezi agrotechnická ochranná opatření patří pozdní výsev ozimů, kdy dochází ke snížení letové aktivity křísků díky nižším teplotám. Dalšími důležitými opatřeními jsou: vyvážené hnojení dusíkem (přehnojené rostliny se stávají atraktivnějšími pro vektory viru), správné osevnické postupy a včasná likvidace výdrolu obilnin, díky čemuž se zabrání přenosu viru z výdrolu na vzcházející ozimy. Chemická ochrana spočívá hlavně ve včasné likvidaci kříska polního pomocí postřiků účinnými insekticidy. Aplikace přípravků by se měla provádět na základě signalizace výskytu kříska v porostu. Monitoring v porostu lze provádět například umístěním horizontálních lepových pásek či smýkáním. Chemické ošetření provádíme při překročení prahu škodlivosti, který činí 5 a více nymf na 100 smyků, při současném výskytu rostlin s příznaky viru nad 10 % v porostech ozimů na jaře. Ošetření porostů provádíme insekticidy na bázi pyretronoidů nebo v kombinaci pyretronoidů a organofosfátů. Ačkoliv existují rozdíly mezi kultivary v citlivosti na WDV, v současné době nejsou k dispozici žádné rezistentní odrůdy (Agromanuál 2017).

## **4 Materiály a metody**

### **4.1 Metodický postup pro odběr vzorků**

#### **4.1.1 Biologický materiál**

Zpracování bakalářské práce probíhalo v rámci řešení různých grantů a zakázek na katedře ochrany rostlin. Proto byly také testovány různé rostliny a za různým účelem.

Jako biologický materiál byly pro potřeby testování použity vzorky odebrané z porostů tykví, cukrové řepy a pšenice, přičemž vzorky tykví se použily pro detekci CABYV, CMV, SqMV, WMV a ZYMV, u cukrové řepy pro BtMV, BYV a BMYV a v porostech obilí se detekce zaměřila na viry BaYDV a WDV. U tykví a cukrové řepy se vždy odebraly dva listy z rostliny, na jeden odebraný vzorek (1 rostlina = 2 listy = 1 pytlík). Vybíraly se především nově narostlé listy. U obilí se pro účely testování odebrala celá nadzemní část rostliny. Listy byly vybírány tak, aby nevykazovaly žádné viditelné příznaky houbových chorob, či jiného poškození, nesouvisejícího s virovou chorobou.

#### **4.1.2 Lokality odběru**

Vzorky tykví byly v roce 2020 odebírány z pokusu provedeného na soukromé farmě v Polepech na Litoměřicku. Pokus byl zaměřen na význam způsobu sklizně plodů pro šíření virů v porostech a probíhal na komerčně využívaném pozemku o rozloze cca 1 ha. Jedna část porostu byla sklizena ulamováním plodů, zatímco v druhé části byly plody odřezávány nožem, jak to je v praxi běžné. Ke zpracování v rámci bakalářské práce jsem dostal také výsledky testování z roku 2019, kdy byly vzorkovány komerční porosty u pěti pěstitelů. Vzorky pšenice byly odebírány z pokusů s různou úrovní chemické ochrany proti přenašečům virů. Tyto pokusy byly založeny na dvou lokalitách a porosty byly na podzim po vzejití ošetřovány různými dávkami insekticidu Transform. Kontrolní vzorky byly odebrány i z komerčního pole u Pařížova, kde byly zřejmé příznaky viróz. Vzorky cukrové řepy byly odebírány jednak z odrůdových a dalších pokusů Řepařského institutu v Semčicích, a jednak z komerčních porostů, kde se vyskytovaly příznaky žloutnutí rostlin.

#### **4.1.3 Odběr vzorků**

Sběr vzorků pšenice proběhl dne 21. 4. 2020. Rostliny v této době byly ve fenologické fázi sloupkování. Odběry vzorků tykví probíhaly od 14. 9. 2020 do 18. 9. 2020 a cukrová řepa byla vzorkována v průběhu října 2020.

U tykví byly z obou částí výše popsaného pokusu odebrány v roce 2020 jak vzorky z rostlin s příznaky, tak i z rostlin bez příznaků. V roce 2019 byly z komerčních polí odebírány pouze vzorky z rostlin s příznaky.

U pšenice byly vzorky odebrány z jednotlivých parcel s různou úrovní ošetření bez ohledu na případnou přítomnost příznaků. Z komerčního porostu v Pařížově byly naopak sebrány vzorky s příznaky viróz jako kontrola.

U cukrové řepy byly z jednotlivých parcelek pokusu v Semčicích i z komerčních polí sbírány pouze vzorky z rostlin vykazujících příznaky žloutnutí.

Vzhledem k tomu, že odběry probíhaly většinou na komerčních polích, nebylo už možné zpětně zjistit konkrétní odrůdy.

Odběry vzorků probíhaly, pokud možno za slunného dne v odpoledních hodinách, aby se předešlo sběru mokrých, či vlhkých listů. Po odběru byly listy z rostliny vloženy do igelitového sáčku opatřeného číslem příslušného vzorku. Vzorky se skladovaly při teplotách do 4 °C do doby, než byly použity pro testování. Délka doby skladování nepřesahovala jeden týden, z důvodu rizika rozvoje plísní. V případě nutnosti uskladnění rostlinného materiálu na delší dobu, by byly vzorky uchovávány v mrazáku při teplotě - 80 °C.

## 4.2 Pracovní postup ELISA

Pro účely detekce CABYV (*Cucurbit aphid borne yellows virus*) a BWYV (*Beet western yellows virus*) byla použita detekční metoda TAS ELISA (Triple Antibody Sandwich ELISA). U ostatních testovaných virů byla použita pro determinaci přítomnosti viru metoda DAS ELISA (Double Antibody Sandwich ELISA). Testy byly prováděny podle návodů výrobců. Většina testů byla nakoupena od DSMZ Braunschweig, některé další potom od Loewe Biochemica. K testům byly používány mikrotitrační desky od firmy Nunc. Pufry byly připraveny podle návodu firmy Loewe Biochemica.

### 4.2.1 DAS-ELISA

- 1) Povrch jamek mikrotitračních destiček byl nejprve potažen potahovacím pufrem se specifickou protilátkou proti určitému antigenu. Protilátky byly ředěny potahovacím pufrem dle instrukcí výrobce. Do každé jamky bylo pipetováno 100 µl naředěné protilátky.
- 2) Destičky byly inkubovány dvě až čtyři hodiny při 37 °C.
- 3) Po inkubaci protilátek byly jamky třikrát promyty promývacím pufrem pomocí stříčky.
- 4) Vzorky testovaných rostlin byly homogenizovány s extrakčním pufrem v třecí misce s tloučkem. Homogenát byl slit do zkumavky a byl uchován v ledové lázni do jeho použití. Pozitivní kontroly byly zakoupeny od výrobce protilátek. Jako negativní kontroly byly používány zdravé rostliny stejného druhu jako byl ten testovaný, vypěstované ve skleníku. Kontroly byly připraveny podobně jako testované vzorky.
- 5) Do jednotlivých jamek bylo dávkováno 100 µl homogenátu ze vzorků rostlin a příslušných kontrol.
- 6) Mikrotitrační destičky byly umístěny do lednice přes noc při teplotě 4 °C.
- 7) Ráno pak byl z destiček odsát homogenát pomocí vodní vývěvy, aby nedošlo při jeho vylívání ke kontaminaci sousedních jamek. Jamky byly třikrát promyty promývacím pufrem pro odstranění nenavázaných složek. Pufr byl při promývání do jamek pipetován a odsáván stejně jako při odstraňování extraktu.
- 8) Dále bylo do jamek přidáno 100 µl konjugátu naředěného příslušným pufrem.



- 9) Destičky byly dále inkubovány dvě hodiny při 37 °C.
- 10) Poté byly destičky čtyřikrát promyty promývacím pufrem a do jamek bylo napipetováno 100 µl substrátového pufru se substrátem. Následovala inkubace vzorků při laboratorní teplotě bez přístupu světla.
- 11) Podle rychlosti reakce byla následně absorbance měřena za 60-120 minut pomocí spektrofotometru Sunrise při 405 nm. Poté byly desky umístěny do lednice a absorbance byla měřena ještě následující den. Míra zabarvení vzorku byla přímo úměrná koncentraci enzymu vázaného na antigeny.

#### 4.2.2 TAS-ELISA

- 1) Povrch jamek mikrotitračních destiček byl nejprve potažen potahovacím pufrem se specifickou polyklonální protilátkou, proti danému viru. Roztok IgG byl ředěn potahovacím pufrem dle instrukcí výrobce. Do každé jamky bylo pipetováno 100 µl naředěné protilátky.
- 2) Destičky byly inkubovány dvě až čtyři hodiny při 37 °C.
- 3) Po inkubaci protilátek byly jamky třikrát promyty promývacím pufrem pomocí stříčky. U některých virů byl v této fázi do jamek pipetován extrakční pufr s 2 % odtučněného mléka kvůli blokování nespecifických vazeb a následovala inkubace 30 minut při 37 °C.
- 4) Kroky 4-7 jsou stejné jako u DAS ELISA.  
Dále bylo do jamek přidáno 100 µl myších monoklonálních protilátek proti viru naředěných v konjugačním pufru ...
- 5) Vzorky byly následně inkubovány při 37 °C dvě hodiny.
- 6) Po inkubaci přešlých monoklonálních protilátek byly jamky čtyřikrát promyty promývacím pufrem. Dále bylo přidáno 100 µl extrakčního pufru s králičí polyklonální protilátkou proti myším IgG konjugovanou s alkalickou fosfatázou.
- 7) Další postup se shodoval s DAS ELISA.

#### 4.2.3 Složení pufrů a roztoků

Phosphate buffered saline (PBS)x10: 80 g NaCl, 2 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 11,5 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2 g KCl, (pH 7,4). Doplníme sterilní demineralizovanou vodou do 1000 ml. Skladován v tmavé láhvi při 4 °C, pH roztoku je upraveno na 7,2.

Promývací pufr (PBS + Tween 20): 0,5 ml Tween 20 rozpustíme v 1000 ml 1X PBS. Skladován při 4 °C.

Potahovací pufr: 1,59 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 2,93 g NaHCO<sub>3</sub> rozpustíme v 1000 ml sterilní demineralizované vody. Skladován při 4 °C, pH pufru je 9,6.

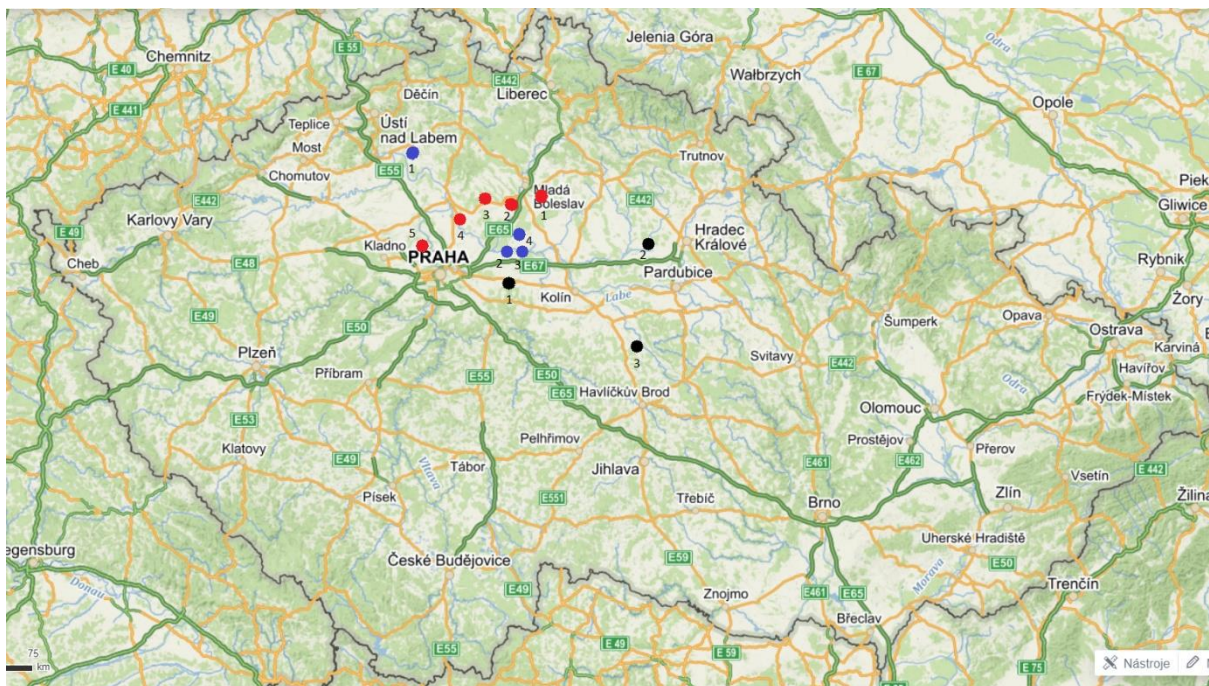
Substrátový pufr: 9,7 ml diethnolamin, 0,095 g MgCl<sub>2</sub> rozpustíme v 1000 ml sterilní demineralizované vody. Skladován v tmavé láhvi při 4 °C.

Extrakční pufr: 2 % PVP (w/V), 0,2 % BSA (w/V), 0,5 ml Tween 20 rozpustíme v 1000 ml 1X promývacího pufru. Skladován při 4 °C.

## 5 Praktická část

### 5.1 Lokality odběru vzorků

Podle výše uvedené metodiky bylo celkově odebráno v roce 2020 celkem 155 vzorků z 9 lokalit v České republice. Celkem bylo odebráno 50 vzorků tykví, 50 vzorků řepy a 55 vzorků obilí.



Červené tečky značí místa odběru vzorků cukrové řepy.

- 1: Semčice (pokusy Řepařského institutu, spol. s.r.o.) – celkem 24 vzorků (č. 1 až č. 24)
- 2: Chotětov (komerční pole)
- 3: Mělnické Vtelno (komerční pole)
- 4: Všetaty (komerční pole)
- 5: Tursko (komerční pole)

Modré tečky značí místa odběrů vzorků tykví.

- 1: Polepy, Litoměřice (komerční pole, testování 2020 všechny vzorky a 2019 č. 1 až č. 20)
- 2: Čelákovice (Zempo Sedlčánky, testování 2019) – celkem 15 vzorků (č. 21 až č. 35)
- 3: Semice (Bramko, testování 2019) – celkem 5 vzorků (č. 36 až č. 40)
- 4: Stará Lysá (Agata, testování 2019) – celkem 15 vzorků (č. 41 až č. 55)

Černé tečky značí místa odběru vzorku obilí.

- 1: Tismice (parcelkové pokusy s insekticidy) – celkem 25 vzorků (od č. 1 až č. 25)
- 2: Nechanice (parcelkové pokusy s insekticidy) celkem 25 vzorků (od č. 26 až č. 50)
- 3: Pařížov (komerční pole) – celkem 5 vzorků (od č. 51 až č. 55)

## 5.2 Výsledky

Z celkového počtu 155 testovaných vzorků vykazovalo celkem 81 vzorků přítomnost alespoň jednoho z testovaných virů, což vyjádřeno v procentech po zaokrouhlení na jedno desetinné místo, odpovídá hodnotě 52,3 %, z toho pozitivních bylo všech 50 vzorků tykví. U pšenice se projevilo 13 pozitivních vzorků z celkového počtu 55. To odpovídá míře 23,6 % pozitivních vzorků. V případě cukrové řepy bylo pozitivních vzorků 18 z 50 testovaných. Míra pozitivivity činila 36 % (viz tabulky č. 1, 2, 3, 4).

### 5.2.1 Testování tykví 2020

Při testování tykví se sledovala přítomnost 5 rostlinných virů v souvislosti se způsobem sběru plodů. Na základě toho se vzorky rozdělily do dvou skupin: na testované rostliny, kde probíhala sklizeň trháním nebo odlamováním plodů, a rostliny, u nichž byly plody z rostlin odřezávány. Cílem tohoto rozdělení bylo zjistit, o kolik bude větší pozitivita u druhé skupiny vzorků, a kde může docházet k přenosu virových chorob při sklizni plodů, skrze kontaminaci nástrojů používaných při sklizni (viz tabulky č. 1 a 2).

		NEŘEZANÉ				
		CABYV	CMV	SqMV	WMV	ZYMV
Bez příznaků	1					
	2					
	3					
	4					
	5					
S příznaky	6					
	7					
	8					
	9					
	10					
	11					
	12					
	13					
	14					
	15					
	16					
	17					
	18					
	19					
	20					
	21					
	22					
	23					
	24					
		Celkem neřezané	1/24	9/24	1/24	22/24
	%	4,2	37,5	4,2	91,7	45,8

Tabulka č. 1. Výsledky testování vzorků tykví sklizených trháním nebo odlamováním. Žlutá políčka = slabá reakce, modrá políčka = střední reakce, červená políčka = silná reakce.

		ŘEZANÉ					
Bez příznaků		CABYV	CMV	SqMV	WMV	ZYMV	
	1						
	2						
	3						
	4						
	5						
	6						
S příznaky	7						
	8						
	9						
	10						
	11						
	12						
	13						
	14						
	15						
	16						
	17						
	18						
	19						
	20						
	21						
	22						
	23						
	24						
	25						
	26						
	Celkem řezané	1/26	12/26	12/26	22/26	20/26	
	%	3,8	46,2	46,2	84,6	76,9	

Tabulka č. 2. Výsledky testování vzorků tykví, plody sklizené odřezáváním. Žlutá políčka = slabá reakce, modrá políčka = střední reakce, červená políčka = silná reakce.

Při porovnávání procentuálního zastoupení rostlinných virů u obou skupin vzorků byl největší nárůst positivity u řezané skupiny vzorků zaznamenán u SqMV (*Squash mosaic virus*). V tomto případě byl počet pozitivních vzorků u řezané skupiny o 42 % vyšší. Většina těchto pozitivních vzorků vykazovala také podobnou intenzitu reakce při ELISA testu, což vypovídá o podobné koncentraci virových částic. Druhý, poměrně vysoký nárůst pozitivních vzorků, se zaznamenal u ZYMV (*Zucchini yellow mosaic virus*), a to u řezané skupiny, kde byl o 31,1 % vyšší. Naopak nejmenší míru positivity v tabulce č. 1 i 2 vykazoval virus CABYV (*Cucurbit aphid-borne yellows virus*). U ostatních testovaných virů byla míra pozitivních vzorků u obou skupin velmi podobná. Rozdíl hodnot z tabulek č. 1 a 2, vyjadřujících podíl pozitivních vzorků u jednotlivých virů, nepřesahoval 10 % (viz tabulky č. 1 a 2).

## 5.2.2 Testování tykví 2019

Pro porovnání výsledků testování tykví 2020 se využila data z testování tykví, probíhajícího na katedře ochrany rostlin ČZU v roce 2019.

vzorek	CABYV	CMV	SqMV	WMV	ZYMV
1		Red			Red
2		Green			Red
3	Green	Red			Green
4	Green	Red			Red
5	Red	Red		Yellow	Red
6		Red			Red
7	Green	Red		Green	Red
8	Green	Red		Green	Red
9	Yellow	Red		Green	Red
10		Red		Red	Red
11	Green	Red		Green	Green
12	Green	Red		Green	Red
13	Yellow	Red		Green	Red
14		Red		Green	Green
15		Green		Yellow	Yellow
16		Green		Green	Green
17		Red		Red	Yellow
18		Red		Red	Green
19		Red		Yellow	Yellow
20		Red		Red	Red
21		Red		Yellow	Red
22		Red	Yellow		Green
23	Yellow	Red	Red	Yellow	Red
24	Green	Red	Red	Green	Red
25		Red	Red	Green	Red
26		Red		Yellow	Yellow
27	Green	Red	Red	Green	Green
28	Green	Red			Red
29	Yellow	Red		Yellow	Red
30		Red			Green
31		Red			Green
32		Red		Yellow	
33		Yellow		Yellow	
34		Green	Yellow	Yellow	
35		Red		Yellow	Red
36		Red			Red
37		Yellow			
38	Red	Green		Green	Red
39		Green			Red
40		Green			
41		Green		Green	
42		Red		Green	
43		Green			
44		Green		Green	

45					
46					
47					
48					
49					
50					
51					
52					
53					
54					
55					
celkem	16/55	55/55	6/55	38/55	37/55
%	29,1	100	10,9	69,1	67,3

Reakce:

slabá
střední
silná

Tabulka č. 3. Výsledky testování tykví na přítomnost CABYV, CMV, SqMV, WMV a ZYMV. (ČZU katedra ochrany rostliny 2019)

Vzorky pro testování v roce 2019 byly odebrány ze čtyř lokalit pěstování tykví (viz kapitola: lokality odběru vzorků). Na každé lokalitě mohl proběhnout odběr z více honů, přičemž z každého honu bylo odebráno pět vzorků. Odběr vzorků byl zaměřen na rostliny vykazující symptomy napadení virovou chorobou. Celkem bylo takto odebráno 55 vzorků a otestováno na přítomnost CABYV, CMV, SqMV, WMV a ZYMV. Všech 55 vzorků bylo pozitivních alespoň na jeden z testovaných virů. Nejvyšší zastoupení pozitivních vzorků vykazovaly vzorky testované na CMV, kdy míra positivity dosahovala 100 %. Druhou nejvyšší míra positivity byla zaznamenána u viru WMV, která činila 69,1 % pozitivních vzorků. Naopak nejmenší míra pozitivních vzorků byla zaznamenána u viru SqMV, která činila 10,9 %.

### 5.2.3 Testování obilí

Při testování obilí byla sledována přítomnost 2 druhů rostlinných virů. U 25 vzorků jsou k dispozici údaje o provedené insekticidní ochraně v porostu (viz tabulky č. 4,5,6).

Tismice (parcelkové pokusy s insekticidy)			
Č. vzorku	BaYDV	WDV	Insekticidní ochrana
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			-

Tabulka č. 4. Výsledky testování vzorků obilí, červená políčka = výskyt viru ve vzorku, bílá políčka = absence viru ve vzorku.

<b>Nechanice (parcelkové pokusy s insekticidy)</b>			
Č. vzorku	BaYDV	WDV	Insekticidní ochrana
28			neošetřená kontrola
29			neošetřená kontrola
33			neošetřená kontrola
34			neošetřená kontrola
38			neošetřená kontrola
27			Vaztak 0,1l/ha
40			Vaztak 0,1l/ha
46			Vaztak 0,1l/ha
47			Vaztak 0,1l/ha
50			Vaztak 0,1l/ha
32			Transform 50 g/ha
39			Transform 50 g/ha
42			Transform 50 g/ha
45			Transform 50 g/ha
49			Transform 50 g/ha
30			Transform 40 g/ha
35			Transform 40 g/ha
36			Transform 40 g/ha
43			Transform 40 g/ha
44			Transform 40 g/ha

26			Transform 30 g/ha
31			Transform 30 g/ha
37			Transform 30 g/ha
41			Transform 30 g/ha
48			Transform 30 g/ha

Tabulka č. 5. Výsledky testování vzorků obilí, červená políčka = výskyt viru ve vzorku, bílá políčka = absence viru ve vzorku.

Pařížov (komerční pole)			
Č. vzorku	BaYDV	WDV	Insekticidní ochrana
51			-
52			-
53			-
54			-
55			-

Tabulka č. 6. Výsledky testování vzorků obilí, červená políčka = výskyt viru ve vzorku, bílá políčka = absence viru ve vzorku.

BaYDV (*Barley yellow dwarf virus*) byl detekován celkem u 13 vzorků z 55, což činí při přepočtu na procenta, po zaokrouhlení na jedno desetinné místo, 23,6 %. Největší míru pozitivitu vykazaly vzorky, odebrané z lokality Pařížov, které všechny měly pozitivní výsledek na BaYDV. Vysoká míra pozitivitu se zaznamenala také u vzorků neošetřených a vzorků ošetřených nejnižší koncentrací přípravku Transform (30 g/ha). V obou případech byly tři z pěti vzorků pozitivní (pozitivita 60 %). WDV (*Wheat dwarf virus*) se vyskytoval pouze v lokalitě Pařížov, odkud byly pozitivní tři vzorky z pěti (pozitivita 60 %). Procenty vyjádřená míra pozitivitu WDV, z celkového počtu vzorků, činila, po zaokrouhlení na jedno desetinné místo, 5,5 % (viz tabulky č. 4,5,6).

#### 5.2.4 Testování cukrové řepy

Při testování cukrové řepy byla sledována přítomnost 3 druhů rostlinných virů. Z 50 testovaných vzorků jich 24 pocházelo z parcelkových pokusů Řepařského institutu, kdy byly parcelkové pokusy osety osivem bez použití neonikotinoidního moření. Zbylých 26 vzorků se odebralo na porostech určených pro komerční využití.

Semčice (nemořené osivo)			
Č. vzorku	BYV	BtMV	BMVYV
1			
2			
3			
4			
5			
6			



7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			
23			
24			

Tabulka č. 7. Výsledky testování vzorků cukrové řepy, červená políčka = výskyt viru ve vzorku, bílá políčka = absence viru ve vzorku.

<b>Komerční porosty (mořené osivo)</b>			
25			
26			
27			
28			
29			
30			
31			
32			
33			
34			
35			
36			
37			
38			
39			
40			
41			
42			
43			
44			
45			
46			

47			
48			
49			
50			

Tabulka č. 8. Výsledky testování vzorků cukrové řepy, červená políčka = výskyt viru ve vzorku, bílá políčka = absence viru ve vzorku.

BYV (*Beet yellows virus*) byl detekován u 18 vzorků z celkových 50, což vyjádřeno procenty odpovídá hodnotě 36 %. Všechny 18 pozitivních vzorků pochází z lokality Semčice, kde se provádí pokusy Řepářského institutu. BtMV (*Beet mosaic virus*) a BMYV (*Beet mild yellowing virus*) nebyly detekovány v žádném z 50 odebraných vzorků (viz tabulky č. 7 a 8).

## 6 Diskuze

Hlavním cílem této práce bylo odpovědět na otázku četnosti výskytu jednotlivých virů, napadajících tykve, obilí a cukrovou řepu. Výsledky bylo nutné porovnat s četností výskytu těchto virů v předchozích letech. Mezi další cíle patřil pokus o definování faktorů, které měly vliv na přítomnost viru v testovaných rostlinách, popřípadě faktorů, ovlivňujících výsledky testování.

Pro porovnání výsledků testování tykví (viz tabulka č. 1 a 2) se využila data z testování tykví, probíhajícího na katedře ochrany rostlin ČZU v roce 2019 (viz tabulka č. 3) Data z této tabulky vykazují celkově vyšší míru pozitivitu vzorků u většiny druhů virů. To je nejspíše následek rozdílných systematik odebrání vzorků. V roce 2019 se sbíraly pouze rostliny, vykazující symptomy napadení. Oproti tomu, bylo v roce 2020 odebráno, kromě jedinců vykazujících příznaky napadení, také 22 % bezpříznakových rostlin, které vykazovaly v průměru menší míru napadení viry. V roce 2019 však také bylo v době vegetace v průměru teplejší a sušší počasí, které vyhovuje vektorům virů. Nejvyšší míru pozitivitu v roce 2020 vykazoval virus WMV, který je celkově zastoupen v tabulce č. 1 a 2 měrou 88 % pozitivních vzorků. Jedná se o výrazný nárůst oproti roku 2019, kdy byl virus WMV zastoupen v 69,1 % pozitivních vzorků. Data testování tykví z roku 2019 vykazují největší výskyt CMV. Virus se zaznamenal ve 100 % odebraných vzorků. Většina jich vykazovala vysoké absorbance, které nám dokládají vysoký obsah virových částic. Oproti tomu testování z roku 2020 ukazuje výrazně nižší výskyt CMV. Míra pozitivních vzorků činila 42 %. Naopak nejmenší výskyt infekce z dat z tabulky č. 1 se prokázal u virů CABYV a SqMV. CABYV se vyskytoval v míře 29,1 % a SqMV v míře 10,9 %. Tento trend je stejný i v tabulce č.1, kde se oba viry vyskytují v ještě menší míře, a to v pouhých 4,2 % vzorků. V tabulce č. 2 dochází k prudkému nárůstu výskytu SqMV, a to o 42 %. Většina těchto pozitivních vzorků vykazovala také podobnou intenzitu reakce při ELISA testu, což vypovídá o podobné koncentraci virových částic. Razantní nárůst, o 31,1 %, můžeme pozorovat i u viru ZYMV. Tento jev je způsoben nejspíš rozdílným způsobem sklizně plodu z rostlin, při kterém mohlo u testovaných rostlin z tabulky č. 2 docházet k mechanickému přenosu virů vlivem kontaminovaných nástrojů používaných při sklizni. Zmíněná podobná koncentrace viru u SqMV v tabulce č. 2 by mohla být způsobena nákazou velkého množství rostlin ve stejném období, což podporuje hypotézu nákazy při sklizni plodů. Khan & Dijkstra (2006) uvádí, že viry z rodu *Comovirus* se snadno přenášejí mechanicky. Jsou poměrně stabilní v surové šťávě z infikovaných rostlin, ve které si zachovávají svou infekčnost při 20 ° C po dobu asi čtyř dnů. Na základě těchto výsledků by bylo možné pěstitelům obecně doporučit sklizeň plodů ulamováním a ne řezáním. To však je proveditelné pouze u některých odrůd tykví. Jiné mají tak pevné stopky, že se sklizeň bez řezání neobejde.

Po porovnání výsledků ozimé pšenice z dat ÚKZÚZ Monitoringu původců virových zakrslostí obilnin (BYDV a WDV) v ČR na jaře v roce 2019. Data z testování ÚKZÚZ vykazují 43 pozitivních vzorků, z celkových 302, odebraných z rozdílných porostů. To činí, při vyjádření procenty, 14 % pozitivních vzorků. Jedná se o nižší výskyt BYDV a WDV, oproti našim výsledkům z jara roku 2020, kdy se oba viry vyskytovaly v 23 % míře. Tento vyšší výskyt virových chorob

v našich výsledcích může být také způsoben přítomností vzorků z parcelových pokusů ošetřených nízkými dávkami insekticidních přípravků nebo parcel bez ošetření sloužících jako neošetřená kontrola. U těchto pokusů s postupně se zvyšujícími dávkami insekticidního přípravku Transform je jasně patrný trend úbytku infikovaných rostlin. Co se týče poměru BYDV a WDV, tak v roce 2019 byl mnohonásobně větší výskyt samotné infekce viru WDV, který se vyskytoval v 67 % ze všech pozitivních vzorků. BYDV se zaznamenal v 7 % a zbylých 26 % bylo infikováno oběma viry. V tabulkách č. 4,5,6 je ovšem patrná převaha výskytu BYDV, který se objevil v 77 % pozitivních vzorků. Zbylých 23 % bylo infikováno oběma viry. Podle ÚKZÚZ měl křísek polní (vektor WDV) na podzim 2018 převážně střední výskyt. Tento fakt se projevil na vyšším podílu jak u podzimních, tak u jarních výskytů infekcí WDV. Chladný a mokrá průběh měsíce května 2019 ovlivnil let hlavního přenašeče BYDV, mšice střemchové. Vrchol jarní migrace se posunul až na polovinu července, což se ukázalo na nižším výskytu BYDV v porostech. V dalším roce byla situace opačná. Suchý, teplý průběh měsíce dubna a začátku května způsobil dřívější vrchol jarní migrace mšice střemchové. To by mohlo vysvětlovat výrazně větší trend ve výskytu BYDV v roce 2020, oproti roku 2019.

Bittner (2012) uvádí, že „výskyt virových chorob v porostech cukrové řepy není příliš častý, díky používání velmi kvalitního insekticidního moření osiva.“ V roce 2018 Evropská komise zakázala moření osiv polních plodin insekticidními látkami ze skupiny neonikotinoidů (thiamethoxam, clothianidin, imidacloprid), s výjimkou pro Českou republiku na použití osiva cukrovky mořeného látkou thiamethoxam, ještě pro rok 2019 (Agromanuál 2019). Tato výjimka byla dále udělena pro roky 2020 i 2021 (Listy cukrovarnické a řepařské 2020). Na základě situace zemí, v kterých byl již tento zákaz uplatněn (např: Německo, Francie a Nizozemí), kde již na jaře 2019 došlo k významným škodám při vzházení a raném růstu řepy. Je předpokládán i v České republice zvýšený výskyt virových žloutenek u cukrové řepy v případě uplatnění tohoto zákazu. Tato obava se potvrdila. Výsledky testů nemořené cukrové řepy (viz tabulky č. 7 a 8) ukazují značné procento positivity na virus BYV u vzorků pocházejících z pokusů, kde neproběhlo insekticidní moření. Ve výsledcích se nejspíše projevil efekt moření z minulých let, kdy virové žloutenky nedosáhly znatelnějšího rozšíření. V případě uplatnění dlouhodobější absence neonikotinoidního moření může dojít k masivnějšímu rozšíření virových žloutenek, jejichž původci v současné době přežívají na hostitelských druzích plevelů a čekají na možnost svého uplatnění. Na druhé straně všechny vzorky byly odebírány podle příznaků žloutnutí. Znamená to, že v řadě případů (všechna komerční pole) byl odhad výskytu virů na základě přítomnosti určitých příznaků nesprávný. Příznaky, které jsou do určité míry podobné příznakům virových žloutenek, může způsobovat třeba nedostatek hořčíku (Bittner & Běhal 2010). Vzorky byly také odebírány až v závěru vegetace, kdy se na žloutnutí mohou podílet i další vlivy, jako je stárnutí listů.

## 7 Závěr

V této bakalářské práci byla potvrzena hypotéza, uvádějící způsob sklizně tykví odřezáváním od mateřské rostliny, za jednu z cest přenosu některých rostlinných virů. Při jejich testování byl prokázán značný vliv mechanického přenosu při sklizni u virů SqMV a ZYMV. Pokud by to tedy u dané odrůdy bylo možné z hlediska pevnosti stopky, bylo by vhodné dát přednost sklizni plodů ulamováním před řezáním.

Dále se potvrdila i hypotéza možného zvýšení výskytu virových žloutenek u cukrové řepy, v případě úplného zákazu moření osiv insekticidními látkami ze skupiny neonikotinoidů. Mezi testovanými vzorky byl zaznamenán výskyt viru BYV, a to v míře 36 % pozitivních vzorků z celkového počtu 50 odebraných. Všechny pozitivní vzorky pocházeli z pokusů, kde neproběhlo insekticidní moření.

Při testování obilí byl zaznamenán jasně patrný trend úbytku infikovaných rostlin se zvyšujícími dávkami insekticidního přípravku Transform. Vysoká míra positivity byla zaznamenána u vzorků neošetřených a ošetřených nejnižší koncentrací přípravku Transform (30 g/ha). V obou případech byly tři z pěti vzorků odebraných z těchto variant pozitivní (pozitivita 60 %).

Cíl, který si kladla tato práce, lze považovat za splněný. Byl uskutečněn monitoring výskytu virových chorob u tykví, ozimé pšenice a cukrové řepy. Celkem bylo testováno 155 vzorků pocházejících z 9 lokalit.

## 8 Zdroje

### 8.1 Seznam použité literatury

- Agrios GN. 2005. Plant Pathology, fifth edition. Academic Press, San Diego.
- Berger PH, Harris, KF, Toler RW. 1989. Rate of loss of infectivity of maize dwarf mosaic virus by *Schizaphis graminum* Rondani after different acquisition access periods. *Journal of Phytopathology* **125**: 336-342.
- Bittner V, Běhal R. 2010. Škodlivé organismy cukrovky, abiotická poškození, choroby, škůdci, plevele. Kurent s.r.o., Praha.
- Bittner V. 2012. Virové žloutenky na cukrovce. *Listy cukrovarnické a řepařské* **128**: 136-138.
- Burchett S, Burchett S. 2017. Plant Pathology. Garland Science, Taylor & Francis Group, New York.
- Caciagli P. 2008. Encyclopedia of Virology, third edition. Academic Press, Cambridge.
- Cann AJ. 2005. Principles of Molecular Virology, fourth edition. Elsevier, Amsterdam.
- Hoffmeisterová H. 2009. Exprese heterologních proteinů v rostlinách [Disertační práce]. Česká zemědělská univerzita fakulta agrobiologie, Praha.
- Hull R, 2001. Matthews' Plant Virology. Academic Press, San Diego.
- Hull R, 2009. Comparative plant virology. Elsevier/Academic Press, Amsterdam.
- Chrpová J, Sumíková T, Kumar J, Váňová M, Bílovský J, Veškrna O. 2017. Ochrana obilnin proti virovým chorobám (BYDV a WDV). Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i, Praha
- Kazda J, 2003. Choroby a škůdci polních plodin, ovoce a zeleniny. Martin Sedláček, Praha.
- Kazda J. 2001. Choroby a škůdci polních plodin, ovoce a zeleniny. FARMÁŘ – ZEMĚDĚLEC, Praha.
- Khan JA, Dijkstra J. 2006. Handbook of Plant Virology. Food Products Press, Binghamton.
- Knipe DM, Howley PM. 2007. Fields Virology, fifth edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Lhotský J. 2015. Úvod do studia symbiotických interakcí mikroorganismů. Nový pohled na viry a bakterie. Academia, Praha.
- Rosypal S, Doškař J, Petržík K, Růžičková V. 2002. Úvod do molekulární biologie IV. Molekulární biologie rostlinných virů. Priony, Molekulární evoluce, Vznik života, Metody molekulární biologie, Genové inženýrství. Třetí inovované vydání. Grafex, Brno.
- Rosypal S. 1994. Bakterie a Virologie. Scientia, Praha.

Svoboda J, Polák J. 2007. Metodika komplexní ochrany tykvovité zeleniny proti viru žluté mozaiky cukety – Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV). Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha.

Sylvester ES, 1952. Comparative transmission of beet-mosaic virus by four aphid species. *Phytopathology* **42**:252-254.

## 8.2 Internetové zdroje

Agromanuál. 2017. Agromanuál.cz. Kurent s.r.o. České Budějovice. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/choroby/virove-chorobyobilnin-a-ochrana-proti-nim> (accessed November 2020).

Agromanuál. 2018. Agromanuál.cz. Kurent.s.r.o. České Budějovice. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/skudci/zdravy-start-rostlin-zacina-morenim-aneb-posledni-sezona-s-insekticidnimi-moridly-obilnin> (accessed November 2020).

Agromanuál. 2019. Agromanuál.cz. Kurent.s.r.o. České Budějovice. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/skudci/ochrana-cukrovky-proti-skudcum-po-roce-2019> (accessed November 2020).

Australasian Plant Pathology Society. 2010. APPS. Available from <https://www.appsnet.org/Publications/POTM/pdf/Feb10.pdf> (accessed November 2020).

CABI. 2020. CABI Invasive Species Compendium. Available from <https://www.cabi.org/isc/datasheet/110067> (accessed December 2020).

CABI. 2020. CABI Plant Knowledge Bank. Available from <https://www.plantwise.org/knowledgebank/datasheet/51185> (accessed December 2020).

CABI. 2020. CABI Plant Knowledge Bank. Available from <https://www.plantwise.org/knowledgebank/datasheet/56821> (accessed December 2020).

CABI. 2020. CABI Plant Knowledge Bank. Available from <https://www.plantwise.org/knowledgebank/datasheet/57657> (accessed December 2020).

International Committee on Taxonomy of Viruses. 2009. ICTV Online. Available from [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_9th\\_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna\\_viruses/265/luteoviridae](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/265/luteoviridae) (accessed December 2020).

International Committee on Taxonomy of Viruses. 2017. ICTV Online. Available from [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_online\\_report/ssdna-viruses/w/geminiviridae](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/ssdna-viruses/w/geminiviridae) (accessed December 2020).

International Committee on Taxonomy of Viruses. 2019. ICTV Online. Available from <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (accessed December 2020).

International Committee on Taxonomy of Viruses. 2019. ICTV Online. Available from [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_online\\_report/positive-sense-rna-viruses/w/bromoviridae](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/w/bromoviridae) (accessed December 2020).

International Committee on Taxonomy of Viruses. 2020. ICTV Online. Available from [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_online\\_report/positive-sense-rna-viruses/w/closteroviridae](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/w/closteroviridae) (accessed December 2020).

International Committee on Taxonomy of Viruses. 2020. ICTV Online. Available from [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_online\\_report/positive-sense-rna-viruses/w/secoviridae/589/genus-comovirus](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/w/secoviridae/589/genus-comovirus) (accessed December 2020).

International Committee on Taxonomy of Viruses. 2020. ICTV Online. Available from [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_online\\_report/positive-sense-rna-viruses/w/potyviridae/572/genus-potyvirus](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/w/potyviridae/572/genus-potyvirus) (accessed December 2020).

LfL Pflanzenschutz. 2020. lfl, bayern, de. Available from <https://www.lfl.bayern.de/ips/gartenbau/232797/index.php> (accessed December 2020).

Listy cukrovarnické a řepařské. 2020. cukr-listy. Available from [http://www.cukr-listy.cz/lc-zpravy\\_2020.html](http://www.cukr-listy.cz/lc-zpravy_2020.html) (accessed December 2020)

Ministerstvo zemědělství ČR. 2019. Eagri.cz. Ministerstvo zemědělství. Praha. Available from [eagri.cz/public/web/file/644160/Puvodci\\_virovych\\_zakrslosti\\_obilnin\\_a\\_krisek\\_polni\\_2019.pdf](http://eagri.cz/public/web/file/644160/Puvodci_virovych_zakrslosti_obilnin_a_krisek_polni_2019.pdf) (accessed November 2020).

Ministerstvo zemědělství ČR. 2019. Eagri.cz. Ministerstvo zemědělství. Praha. Available from [eagri.cz/public/app/srs\\_pub/fytoportal/public/?key="c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c735504"#r|p|plodiny|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c485833](http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=) (accessed November 2020).

Venclová B. 2016. Úroda. Available from <https://www.uroda.cz/monitoring-virovych-patogenu-obilnin-v-cr-v-letech-2013-2016/> (accessed December 2020).

Zitter TA, Murphy F. 2009. apsnet. Available from <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/viral/pdlessons/Pages/Cucumbermosaic.aspx> (accessed December 2020).