

SBORNÍK
ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

Rostlinná výroba

2 ✓

ROČNÍK 6 (XXXIII) — PRAHA, ÚNOR 1960

CENA 18 Kčs

ROSTLINNÁ VÝROBA

Řídí redakční rada: *dopisující člen ČSAZV prof. dr. Václav Káš (předseda), inž. František Baxa, inž. Karel Kohout, dopisující člen ČSAZV prof. dr. inž. Vladimír Kosil, inž. Ladislav Laho, doc. dr. inž. František Landovský, inž. Miloslav Schmied, inž. Vladimír Skládal, inž. Juraj Uhliár, dopisující člen ČSAZV RNDr. inž. Jaroslav Zakopal. — Vedoucí redaktorka Milena Sovová.*

© Československá akademie zemědělských věd, Praha 1960

Obsah — Содержание — Content — Inhalt

- Koula V., Veselá O.: Stanovení přímé a reziduální toxicity aerosolů s obsahem některých dalších chlorovaných a fosforových insekticidů s kontaktním a systemickým účinkem pro mandelinku bramborovou (*Leptinotarsa decemlineata* Say) v laboratorních podmínkách
 Установление непосредственной и остаточной токсичности аэрозолей с содержанием некоторых хлорированных, полициклических и фосфорных инсектицидов с контактным и системным действием на колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say) в лабораторных условиях
 Ermittlung der direkten und residualen Toxizität von Aerosolen mit Gehalt an einigen chlorierten, polyzyklischen und phosphorhaltigen Insektiziden mit Kontakt- und systemischer Wirkung auf den Kartoffelkäfer (*Leptinotarsa decemlineata* Say) in Laborbedingungen
 Determination of direct and residual toxicity of aerosols containing some chlorinated, polycyclic and phosphoreous insecticides with contact and systemic effect for Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) in laboratory conditions 145
- Samšišňáková A., Čermáková A.: Vliv infekce houby *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. na larvy mandelinky bramborové *Leptinotarsa decemlineata* Say
 Влияние инфекции гриба *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. на личинки колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say
 Einfluß der Infektion mit dem Pilz *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. auf die Larven des Kartoffelkäfers *Leptinotarsa decemlineata* Say
 Effect of the Infection by the Fungus *Beauveria bassiana* (Bals. Criv.) Vuill. on Larvae of the Potato Beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say 163
- Nohejl J., Červenka J.: Příprava diagnostických sér proti virům X, Y a S u bramborů imunizací skopců a koně
 Подготовка диагностических сывороток против вирусов «X», «Y» и «S» у картофеля путем иммунизации валухов и лошадей
 Herstellung diagnostischer Sera gegen die Viren X, Y und S der Kartoffeln durch Immunisierung von Hammeln und eines Pferdes 169

Stanovení přímé a reziduální toxicity aerosolů s obsahem některých dalších chlorovaných a fosforových insekticidů s kontaktním a systemickým účinkem pro mandelinku bramborovou (*Leptinotarsa decemlineata* Say) v laboratorních podmínkách

Установление непосредственной и остаточной токсичности аэрозолей с содержанием некоторых хлорированных, полициклических и фосфорных инсектицидов с контактным и системным действием на колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say) в лабораторных условиях

Ermittlung der direkten und residualen Toxizität von Aerosolen mit Gehalt an einigen chlorierten, polyzyklischen und phosphorhaltigen Insektiziden mit Kontakt- und systemischer Wirkung auf den Kartoffelkäfer (*Leptinotarsa decemlineata* Say) in Laborbedingungen

Determination of direct and residual toxicity of aerosols containing some chlorinated, polycyclic, and phosphoreous insecticides with contact and systemic effect for Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) in laboratory conditions

Dr. inž. Václav KOULA, Olga VESELÁ

Výzkumný ústav rostlinné výroby ČSAZV, oddělení ochrany rostlin, Ruzyně

Došlo dne 19. IX. 1959

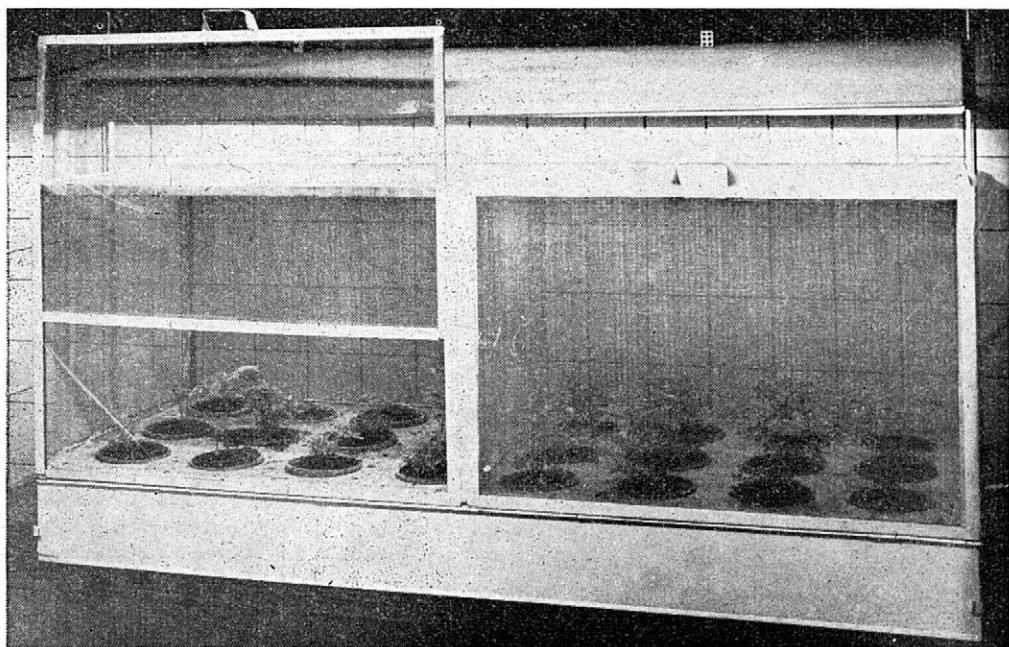
Úvod a část všeobecná

Práce řeší některé otázky, které mohou ovlivnit přímou toxicitu používaných aerosolů. V laboratorních podmínkách byl proto studován vztah „čas — účinek“ a nemalá pozornost byla věnována aplikaci aerosolů na mokrou rostlinu, jakož i vlivu srážek na účinnost. V sérii pokusů byla hledána dolní účinná mez DDT aerosolu, používaného proti mandelince bramborové (*Leptinotarsa decemlineata* Say). Za účelem zrychlení účinnosti, využití synergických vlastností (3, 8, 9), snížení možnosti výskytu rezistentních kmenů (1) a snížení toxicity pro teplo-krevné (1, 2, 10) byl prostudován γ HCH a jeho kombinace s DDT, Methoxychlor a některé polycyklické chlorované insekticidy. U některých těchto látek byl zjišťován i jejich případný ovicidní účinek a mnohé z nich byly ve svém účinku srovnávány s vodním postřikem ve stejných i vyšších dávkách. Vedle chlorovaných insekticidů jsme studovali přímou toxicitu i fosforových insekticidů se systemickým a kontaktním působením. Práce popisuje též některé zkušenosti, získané při laboratorním chovu mandelinky bramborové.

Část experimentální

Při praktickém používání insekticidů proti larvám a broukům mandelinky bramborové jinak stejného vývojového stadia nebo stáří i za těch nejideálnějších podmínek můžeme někdy pozorovat jisté rozdíly v účinnosti. Tyto rozdíly za předpokladu stejnoměrného ošetření mohou být způsobeny tím, že někteří jedinci předčasně opouštějí ošetřovanou rostlinu, a to buď proto, že je aplikovaná látka odpuzuje, anebo následkem slabého podráždění se na rostlině neudrží a předčasně padají na zem, čímž zkracují podstatně dobu styku s insekticidem.

V sérii laboratorních pokusů s 10 % DDT studeným aerosolem hledali jsme proto potřebnou dobu styku hmyzu s insekticidem, při které bychom dosáhli nejvyšší účinnosti. Protože tuto dobu může ovlivnit přímé zasažení hmyzu i jeho dodatečný styk s látkou, byly studovány obě možnosti. Jako testovací hmyz sloužili brouci mandelinky bramborové pěstovaní v insektariu za standardních podmínek. Pro založení chovů bylo ke konci měsíce září sebráno na neošetřované lokalitě v Heřmani u Písku 2000 brouků I. generace těsně před jejich zalézáním do půdy. Pro jejich přezimování byly upraveny papírové krabice, opatřené vzdušnými otvory a vrstvami papírové vaty. Mezi jednotlivé vrstvy se vložilo vždy asi 250 brouků, vzájemně od sebe vatou izolovaných. Papírové krabice s takto ošetřenými brouky se vložily do lednice se stálou teplotou $+4^{\circ}\text{C}$ (11). Vždy jednou za měsíc se krabice otevřely a mrtví jedinci se vyjmuli. Po pěti měsících přezimování se brouci z krabic přenesli a rozložili na plochou mísu, pokrytou navlhčenou papírovou vatou, k doplnění hladiny vody v těle. Mísa s brouky byla zprvu ozařována infračervenými lampami, později normálním elektrickým světlem. Teplota ozáření nepřesáhla nikdy 25°C . Asi po týdenním chovu na ovlhčené vatě byli ti brouci,

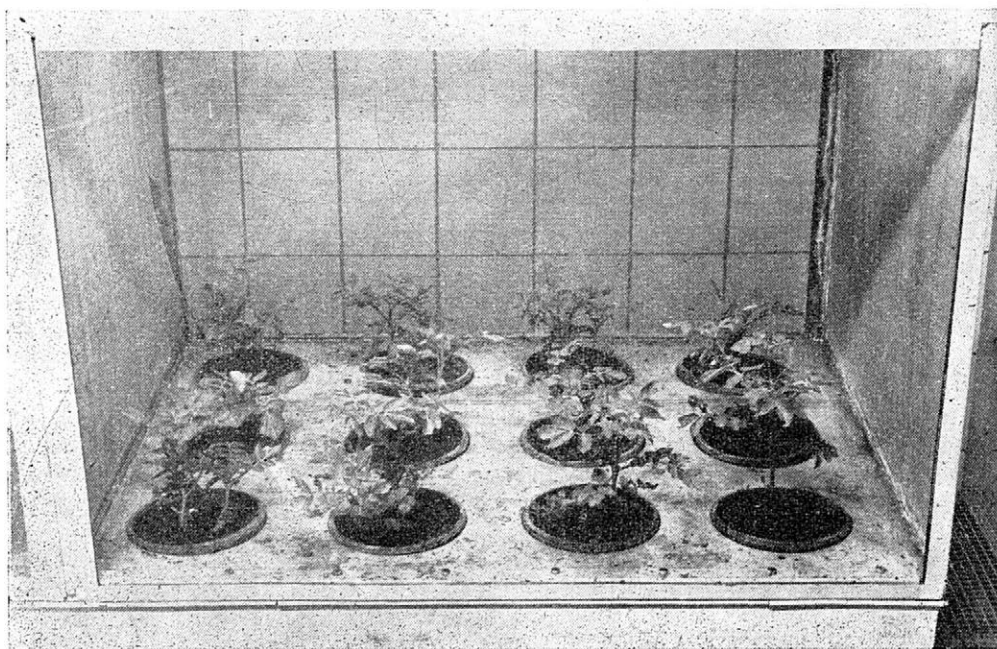


1. Kovová klec pro chov mandelinky bramborové. (Foto M. Novák, VÚRV Ruzyně)

kterí se již normálně pohybovali, přeneseni do zvlášť k tomu upravených klecí s bramborovými rostlinami, umístěnými v insektariu, při teplotě 25° C a relativní vlhkosti 60 %. Každá klec rozměrů 180 X 75 X 65 cm sestává z kovové kostry, potažené jemným drátěným pletivem. Přední stěna je opatřena výsuvnými dvířky. Dno klece je dvojité, ve vzdálenosti 20 cm od sebe. Vrchní dno má 25 otvorů o průměru 15 cm, do kterých lze až po okraj zasunout květináče s rostlinami. Spodní dno je opatřeno kovovou mísou pro přebytek vody. Vrchní drátěná stěna je opatřena posuvnými rampami s normálním elektrickým světlem. Každou klec lze podle potřeby předělit na dvě nebo tři stejné části. Celé uspořádání klecí umožňuje pěstovat mandelinku bramborovou v přirozených podmínkách na živých rostlinách. Potřebné bramborové rostliny odrůdy Krasava byly pěstovány ve skleníku za standardních podmínek. Protože výsadba se prováděla až v měsíci únoru, kdy jmenovaná odrůda již dostatečně klíčila, nebylo zapotřebí pro tyto účely používat chemikálií.

Brouci přenesení do části klece s bramborovými rostlinami prodělávali jarní žír. Asi za 14 dnů po probuzení počali klást. Kladení probíhalo celkem normálně a vykladená vajíčka na listech se zpočátku ponechávala na rostlinách, ale později se tento způsob chovu ukázal jako méně vhodný pro velkou spotřebu bramborových rostlin a jednotlivé listy s vykladenými vajíčky byly proto přenášeny do Petriho misek, opatřených vlhkými filtračními papíry. Na rostliny se přenášely teprve larvy II. vývojového stadia k dalšímu vývoji. Larvy IV. vývojového stadia zalézaly do půdy květináčů, které se ukládaly potom do další části klece. Vylezli brouci se přenesli opět do klecí s bramborovými rostlinami.

S takto přezimujícími brouky, vypěstovanými larvami a brouky I. generace, byly zakládány jednotlivé pokusy. Nejprve byla hledána potřebná doba styku hmy-



2. Část kovové klece s bramborovými rostlinami. (Foto M. Novák, VÚRV Ruzyně)

zu s insekticidem při přímém zasažení. Do pokusů bylo vzato vždy 20 brouků přezimující generace, z toho asi polovina samečků a polovina samiček. Každý pokus se třikrát opakoval. Brouci v uvedeném počtu se vložili do předem náležitě vyčištěných a residuí zbavených otevřených Petriho misek, které se potom umístily do vertikálního toximetru (5). Aplikace 10 % DDT studeného aerosolu se provedla běžně používaným atomizérem (7) dávkou 0,122 ml, tlakem 0,5 at. Po desetiminutové sedimentaci byli brouci z exponovaných Petriho misek v přesně stanovených intervalech přenášeni do čistých a uloženi v rekreační místnosti s teplotou 25° C a relativní vlhkostí 60 %. Kontrola účinnosti se prováděla vždy po 24 hodinách až do doby, kdy přirozená mortalita nepřesáhla 20 %. Současně s tímto pokusem probíhal pokus s čistým ložiskovým olejem č. 107 a pokus kontrolní. Procenta účinnosti byla vypočítána podle Abbotova vzorce (5). V pokusech byly dosaženy tyto výsledky:

I.

Doba styku hmyzu s insekticidem	Procento účinnosti dosažené 10% DDT studeným aerosolem po 144 hodinách
Kontrola	—
Ložiskový olej č. 107	—
30 vteřin	70,5
1 min.	94
10 min.	82,3
20 min.	83
40 min.	82,3
90 min.	88
3 hod.	94
6 hod.	100
12 hod.	100
24 hod.	100

II.

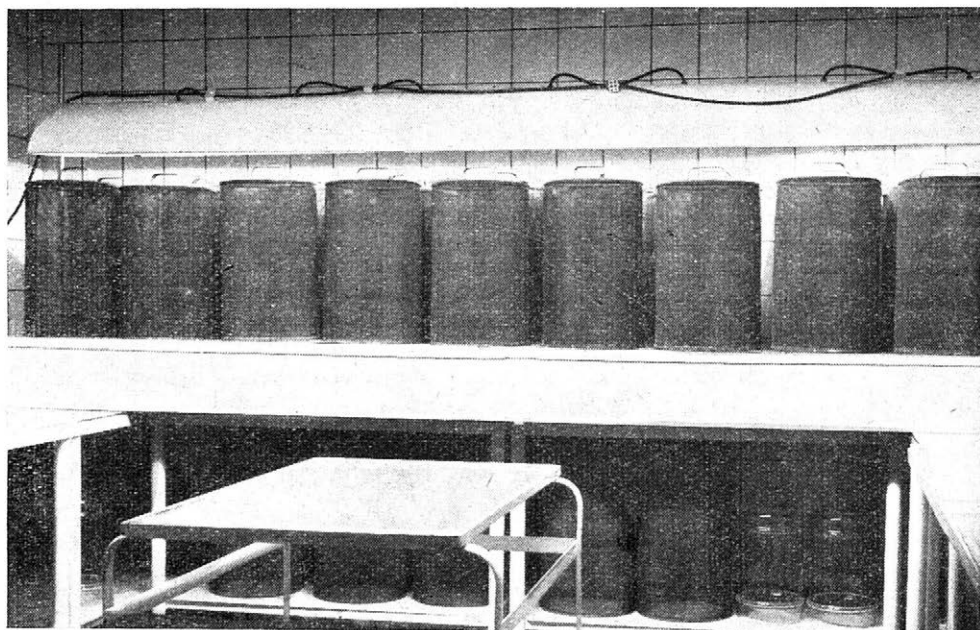
Doba styku hmyzu s insekticidem	Procento účinnosti dosažené 10% DDT studeným aerosolem po 144 hodinách
Kontrola	—
Ložiskový olej č. 107	—
30 vteřin	20
1 min.	13
10 min.	26
20 min.	70
40 min.	76
90 min.	74
3 hod.	74
6 hod.	69
12 hod.	100
24 hod.	100

Stejným způsobem byl založen i druhý pokus, ve kterém byla hledána potřebná doba styku s insekticidem, který s ním přišel do styku teprve dodatečně při vysazení na ošetřovanou podložku (tab. II).

Výsledky obou pokusů ukazují, že účinek 10 % DDT studeného aerosolu na brouky přezimující generace mandelinky bramborové je přímo úměrný době, po kterou je hmyz ve styku s látkou. S přibývajícím délkou doby styku stoupá i mortalita. Přímé zasažení hmyzu zkracuje podstatně potřebnou dobu styku, takže k 100 % mortalitě dochází prakticky již za 6 hodin, zatímco u nepřímého zasažení až teprve po 12 hodinách. Odstraní-li se hmyz z ošetřeného prostředí před touto dobou, účinek se sníží a s přibývajícím časem se již nezvyšuje. Tyto pokusy mohou nám do jisté míry osvětlit příčiny někdy se objevivší nedostatečné účinnosti, pro kterou nemáme jiné vysvětlení a která může být právě způsobena předčasným opuštěním ošetřené rostliny hmyzem z nejrůznějších příčin.

Naše dřívější laboratorní práce bylo třeba ještě doplnit studiem studených aerosolů s nižším obsahem DDT, s obsahem γ HCH a kombinacemi DDT + γ HCH v různých koncentracích. Do pokusů jsme vzali pouze larvy IV. vývojového stadia, vypěstované za standardních podmínek, dosahující průměrné tělesné váhy kolem 126 mg. Z aerosolů byl studován 7,5 % a 5 % DDT, 2 %, 1 % a 0,5 %

γ HCH, 7,5 % DDT+1 % γ HCH, 5 % DDT+1 % γ HCH, 2,5 % DDT+1,5 % γ HCH. Pokusy byly rozděleny na přímou aplikaci a dodatečné vysazování larev na bramborové rostliny pěstované v květináčích za standardních podmínek, dorůstajících výšky asi 20 cm. Při přímé aplikaci se na každou rostlinu vysadilo vždy 20 jedinců. Do pokusů se braly tři rostliny se 60 jedinci. Půda každého květináče byla přikryta lepenkou, stonek utěsněn vatou a otvor kolem něho zalit parafinem, aby se tak zabránilo zalézání larev do půdy. Vždy 3 rostliny s larvami byly vloženy do vertikálního toximetru a provedena aplikace studovaných látek v dávce 0,122 ml. Po desetiminutové sedimentaci byly rostliny i s larvami z toximetru vyjmuty a přeneseny do rekreační místnosti s teplotou 25° C a relativní vlhkostí 60 % a umístěny ve zvláštním plechovém stole rozměrů 320 X 80 cm, v jehož vrchní desce je 50 otvorů o průměru 15 cm, do kterých se zasouvají až po okraj květináče s bramborovými rostlinami. Spodní deska je opatřena plochou



3. Plechový stůl s drátěnými poklopy. (Foto M. Novák, VÚRV Ruzyně)

mísou pro odpadní vodu, případně k udržování potřebné vyšší vlhkosti. Bramborové rostliny se svrchu přiklopují poklopy z jemného drátěného pletiva rozměrů 24 X 40 cm. Stůl je opatřen výsuvnou rampou s elektrickým světlem. Toto zařízení nahrazuje rostlinám skleníkové prostředí.

Při dodatečném vysazování larev na ošetřené rostliny se postupuje celkem obdobně jako v prvním případě, pouze s tím rozdílem, že do toximetru se vloží rostliny prosté hmyzu. Po aplikaci a desetiminutové sedimentaci se hmyz na ně vysazuje až v rekreační místnosti ve stejném počtu a za stejných podmínek se zde přechovává. Kontrola účinnosti se provádí vždy po 24 hodinách až do doby, kdy přirozená mortalita nepřesáhne 20 %. Zároveň s těmito pokusy byl založen i pokus s čistým ložiskovým olejem č. 107 a pokus kontrolní. Při konečné kontrole byly dosaženy tyto výsledky:

Aerosolový roztok s obsahem účinné látky v procentu	Procento účinnosti po 144 hodinách	
	při přímé aplikaci	při dodatečném vysazování
Kontrola	—	—
Ložiskový olej č. 107	—	—
7,5% DDT	22	27
5% DDT	12	6
2% γ HCH	100	100
1% γ HCH	100	100
0,5% γ HCH	100	100
7,5% DDT + 0,5% γ HCH	100	100
5% DDT + 1% γ HCH	100	94
2,5% DDT + 1,5% γ HCH	100	100

Z tabulky je zřejmé, že 7,5 % a 5 % DDT studený aerosol je již na larvy IV. vývojového stadia nedostatečně účinný, bez ohledu na to, zda jde o jejich přímé zasažení nebo o dodatečný styk s látkou. U obou koncentrací došlo ke kuklení a k líhnutí zdravých jedinců.

γ HCH aerosol a kombinace γ HCH + DDT ve všech koncentracích bez ohledu na přímou aplikaci nebo dodatečné vysazování vykázaly na larvy IV. vývojového stadia 100 % účinnost. V těchto pokusech nedošlo ani k jedinému zakuklení. U brouků se ve stejném časovém údobí projevuje příznivěji přímá aplikace.

Podobným způsobem byly uspořádány i pokusy se studenými aerosoly obsahujícími DDT a γ HCH i jejich kombinace v různých koncentracích proti starším broukům I. generace, chovaným za standardních podmínek, kteří již projevovali tendenci zalézt do půdy. Místo bramborových rostlin bylo v pokusech použito Petriho misek, na které se po aplikaci v dávce 0,122 ml a desetiminutové

IV.

Aerosolový roztok s obsahem účinné látky v procentu	Procento účinnosti po 206 hodin.
Kontrola	—
Ložiskový olej č. 107	—
10% DDT	100
2% γ HCH	100
1% γ HCH	100
7,5% DDT + 0,5% γ HCH	100
5% DDT + 1% γ HCH	100
2,5% DDT + 1,5% γ HCH	100

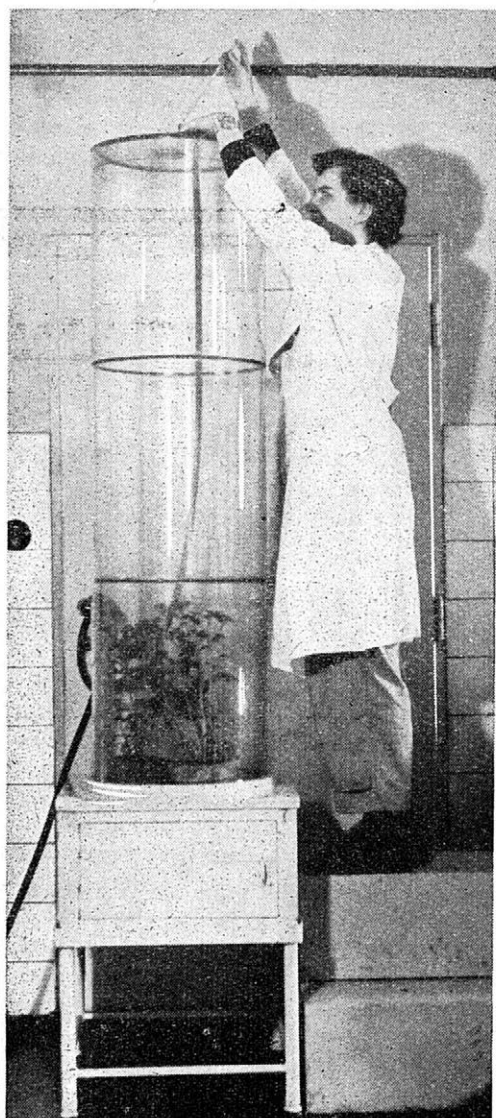
sedimentaci vysazovalo v rekreační místnosti při teplotě 25° C a relativní vzdušné vlhkosti 60 % vždy dvacet jedinců, z čehož byla přibližně polovina samců a polovina samic. Každá látka byla studována ve třech opakováních. Vedle toho byl založen i pokus s ložiskovým olejem č. 107 a pokus kontrolní. Vždy po 24 hodinách byla prováděna obvyklým již způsobem kontrola účinnosti.

Výsledky těchto laboratorních pokusů ukázaly vysokou účinnost DDT a γ HCH studených aerosolů i jejich kombinací proti starším broukům I. generace. Rychlejší působení γ HCH i kom-

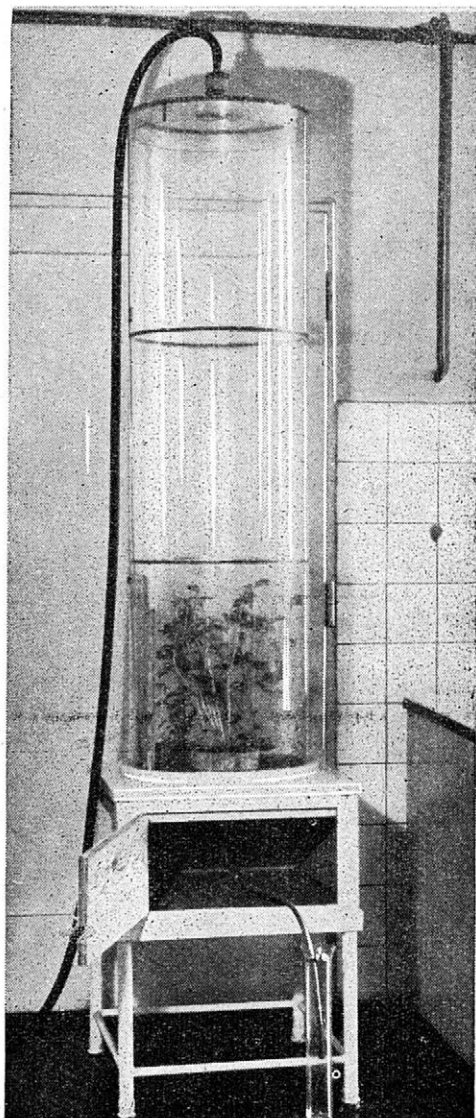
binací DDT + γ HCH ve srovnání s DDT je způsobeno jeho těkavostí. Je jistě zajímavé, že i po rozpuštění γ HCH v oleji, tedy v látce s vysokým bodem varu a nízkou těkavostí, si zachovává své fumigantní vlastnosti, které rozhodují o jeho rychlejší a mnohdy i bezpečnější účinku, jak jsme se již v dřívějších pokusech o tom přesvědčili (4, 5).

V jiných laboratorních pokusech jsme se chtěli přesvědčit, do jaké míry může ovlivnit účinek aplikace aerosolů, provedená těsně před deštěm a na mokré rostli-

ny. Tato studia byla provedena na bramborových rostlinách za použití larev I.—IV. vývojového stadia a mladých brouků I. generace těsně po vylezení. Aplikace 5% DDT, 2% a 1% γ HCH v dávce 0,122 ml, tlakem 0,5 atm. byla provedena ve vertikálních toximetrech způsobem již dříve popsáným. Po desetiminutové sedimentaci byly bramborové rostliny přeneseny do speciálně upravené zadešťovací aparatury, jejíž hlavní součástí je vlastně vertikální toximetr, kde místo atomiseru se použije vodní rozstřikovač s otvory o průměru 0,5 mm. Expoziční deska toximetru je nahrazena dírkovaným plechem pro odtékání vody, která



4. Vertikální toximetr pro aplikaci studených aerosolů. (Foto M. Novák, VÚRV, Ruzyně)



5. Vertikální toximetr upravený jako zadešťovací přístroj. (Foto M. Novák, VÚRV, Ruzyně)

se jímá na dně zadešřovací aparatury v plechové míse a odvádí otvorem do odměrného válce pro měření srážek. Zadešřovací aparatura se napojuje na vodovod a může být opatřena vodoměrem a tlakoměrem pro automatické nařízení množství srážek. V zadešřovací aparatuře byly rostliny vystaveny srážkám rovnajícím se 10 mm. Po oschnutí bylo na tyto

rostliny vysazeno vždy 20 larev stejného vývojového stadia nebo brouků I. generace, pěstovaných za standardních podmínek. Každý pokus byl třikrát opakován. Vedle toho se založil i pokus bez zadešřování, pokus s čistým ložiskovým olejem číslo 107 a kontrolní pokus. Rostliny s hmyzem byly uloženy v rekreační místnosti ve zvláštních, dříve již popsanych stolech a chovány při teplotě 25° C a relativní vlhkosti 60 %. Kontrola účinnosti se prováděla vždy po 24 hodinách, poslední pak z důvodu odumírání bramborových rostlin po 120 hodinách. Stejným způsobem bylo postupováno i v druhém případě, kdy zadešřování v množství 10 mm bylo provedeno před ošetřením. Aplikace se provedla na mokré rostliny, a po desetiminutové sedimentaci se vysadily na rostliny v rekreační místnosti larvy a brouci mandelinky bramborové.

Pro odumírání rostlin musely být rovněž i pokusy se sledováním účinku DDT po 120 hodinách předčasně ukončeny. Dosažené výsledky nejsou tudíž konečné, avšak postačitelne pro srovnání s γ HCH aerosolem.

Laboratorní pokusy se zadešřováním ukázaly, že srážky v množství 10 mm před i po aplikaci 5 % DDT studeného aerosolu snižují účinnost jak na larvy všech vývojových stadií, tak i na brouky. Naproti tomu účinnost 2 % a 1 % γ HCH aerosolu nebyla zadešřováním jak před aplikací, tak i po ní ovlivněna. I v tomto případě měla těkavost γ HCH podstatný vliv na dosaženou vysokou účinnost.

Papírové krabice opatřené vatou a určené k přezimování mandelinky bramborové se ukázaly naprosto nevhodné. Přirozená mortalita přezimujících brouků byla značně vysoká a jedinci, kteří přežili, nedosáhli nikdy takové vitality jako brouci, kteří přezimovali v přirozených podmínkách. Bramborové rostliny, pěstované v nepřirozených podmínkách, brzy odumíraly a larvy i brouci na nich nenalezali proto plnohodnotnou potravu. Nedostatek hodnotné potravy měl potom za následek různé degenerační zjevy v chovu, které jsou pochoptitelně nežádoucí.



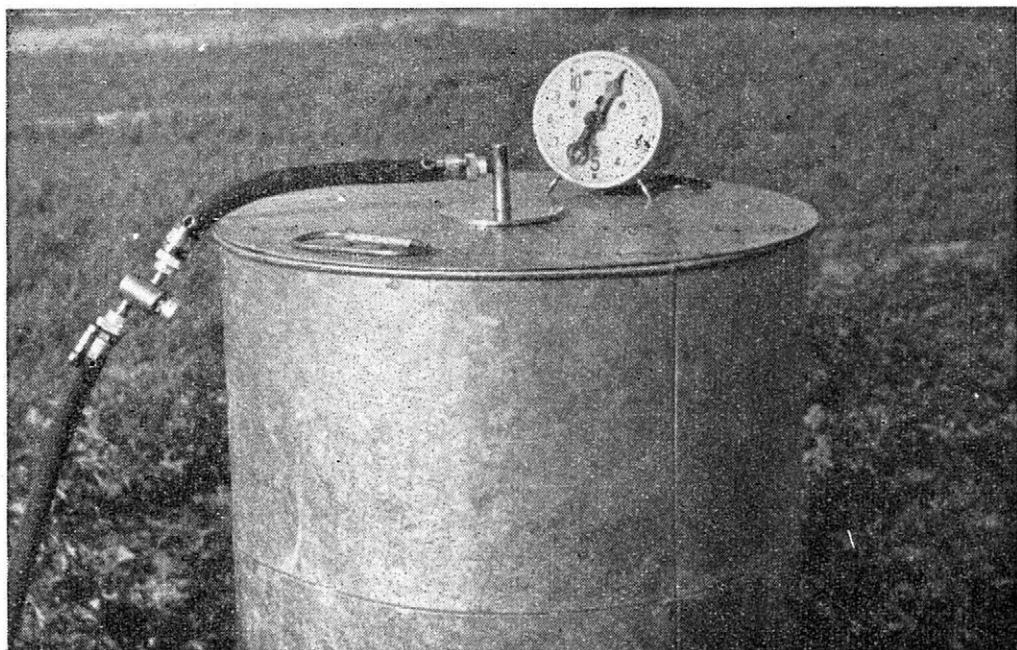
6. Vodní tryska zadešřovacího přístroje. (Foto M. Novák, VÚRV, Ruzyně)

Aerosolový roztok s obsahem účinné látky v procentech	Způsob aplikace	Procento účinnosti na jednotlivá výv. stadia larev a brouky po 120 hod.				
		L 1	L 2	L 3	L 4	B I
Kontrola	normální vysazení škůdce	—	—	—	—	—
	vysazeno před zadešťováním	—	—	—	—	—
	vysazeno po zadešťování	—	—	—	—	—
Ložiskový olej č. 107	bez zadešťování	—	—	—	—	—
	před zadešťová- ním	—	—	—	—	—
	na mokrou rostlinu	—	—	—	—	—
5% DDT	bez zadešťování	100	82	65	28	13
	před zadešťová- ním	73	48	31	21	5
	na mokrou rostlinu	96	51	25	21	5
2% γ HCH	bez zadešťování	100	100	100	100	100
	před zadešťová- ním	100	100	100	100	100
	na mokrou rostlinu	100	100	100	100	98,5
1% γ HCH	bez zadešťování	100	100	100	100	100
	před zadešťová- ním	100	100	100	95	83
	na mokrou rostlinu	100	100	100	100	100

Abychom si ověřili výsledky laboratorních studií i na hmyzu, žijícím v přirozených podmínkách, založili jsme řadu polních pokusů s jednotlivými rostlinami. Pro aplikaci látek v takto uspořádaných pokusech jsme zhotovili přenosný plechový toximetr výšky 120 cm, s kruhovitou základnou o průměru 40 cm. Horní výsuvné víko je opatřeno otvorem pro námi běžně používaný atomizér. Potřebný stlačený vzduch se přivádí z upravené zádové stříkačky Famosa, která je opatřena redukčním ventilem na přetlak 4 atm. S takto upraveným toximetrem byl na neošetřované lokalitě Heřmaň v okrese Písek založen 18. června 1957 pokus, ve kterém byl sledován účinek studených aerosolů obsahujících 7,5 % a 5 % DDT, 2 %, 1 % a 0,5 % γ HCH, 7,5 % DDT+1 % γ HCH, 5 % DDT+1 % γ HCH, 2,5 % DDT+1,5 % γ HCH na vajíčka a vylíhlé larvy mandelinky bramborové.



7. Pokusná lokalita v Heřmaní u Písku. (Foto Dr. Koula, VŮRV Ruzyně)



8. Horní část přenosného toximetru s atomizérem a dávkovacím zařízením.
(Foto Dr. Koula, VŮRV Ruzyně)

Pro každý pokus byly vybrány vždy tři bramborové rostliny s jednou nebo několika skupinami vajíček přibližně stejného stáří. Larvy jakéhokoliv stadia nebo i brouci se jak s pokusných, tak i se sousedních trsů odstranili. V každé skupině se zjistil přesný počet vajíček. Aplikace studovaných látek se provedla mezi 14. až 15. hodinou odpolední, při teplotě 21°C , relativní vzdušné vlhkosti 80 %, dávkou



9. Zádová stříkačka s redukčním ventilem, upravená jako zásobník vzduchu pro atomisaci aerosolových roztoků v přenosném toximetru. (Foto Dr. Koula, VÚRV Ruzyně)



10. Larvy mandelínky bramborové po aplikaci v silenovém úpletu na rostlině. (Foto Dr. Koula, VÚRV Ruzyně)

5,5 kg/ha, při použití tlaku 0,5 atm. Po pětiminutové sedimentaci a odvětrání toximetru se provedlo ošetření další rostliny. Současně byl založen pokus kontrolní a pokus s ložiskovým olejem č. 107. Kontrola účinnosti byla prováděna vždy po 24 hodinách, přičemž byl sledován počet vylíhlých jedinců a následné toxické účinky. Výsledky těchto pokusů nejsou uspokojivé a pouze tam, kde došlo k přímému zasažení, projevil se jistý účinek, který byl vyvolán spíše rozpustidlem, v našem případě olejem, než insekticidem samotným. Rovněž i reziduální toxicita na vylíhlé larvy nebyla zcela průkazná.

V dalších pokusech se jmenovanými látkami byl sledován i jejich účinek na larvy II. a IV. vývojového stadia. Vedle těchto látek byly studovány i některé zahraniční přípravky, z kterých byly pomocí organických rozpustidel připraveny aerosolové roztoky s obsahem stejného množství účinných látek jako v případě DDT a γ HCH.

VI. Studený aerosol v dávce 5,5 kg/ha

Aerosolový roztok s obsahem účinné látky v procentu	Množství účinné látky na 1 ha v g	Procento účinnosti na larvy II. výv. stadia za hodin			
		24	48	72	144
Kontrola		—	—	—	—
Ložiskový olej č. 107	5500	—	—	—	—
7,5% DDT	412,5	97	100	100	100
5% DDT	275	81	100	100	100
2% γ HCH	110	92	100	100	100
1% γ HCH	55	99	99	100	100
0,5% γ HCH	27,5	81	93	98	99
7,5% DDT + 0,5% γ HCH	412,5 + 27,5	100	100	100	100
5% DDT + 1% γ HCH	275 + 55	94	100	100	100
2,5% DDT + 1,5% γ HCH	137,5 + 82,5	100	100	100	100

VII. Vodní postřik v dávce 300 l/ha

Vodní emulze s obsahem účinné látky v procentu	Množství účinné látky na 1 ha v g	Procento účinnosti na larvy II. výv. stadia za hodin			
		24	48	72	144
Kontrola		—	—	—	—
Voda	300 l	—	—	—	—
7,5% DDT	412,5	93	100	100	100
5% DDT	275	94	100	100	100
2% γ HCH	110	100	100	100	100
1% γ HCH	55	100	100	100	100
0,5% γ HCH	27,5	82	100	100	100
7,5% DDT + 0,5% γ HCH	412,5 + 27,5	99	100	100	100
5% DDT + 1% γ HCH	275 + 55	100	100	100	100
2,5% DDT + 1,5% γ HCH	137,5 + 82,5	90	100	100	100

DDT a γ HCH aerosoly včetně jejich kombinací byly pak srovnávány ve stejných dávkách s DDT a γ HCH vodními postřiky v množství 300 a 6 l/ha. Uspořádání těchto pokusů za použití přenosného toximetru bylo obdobné jako v předcházejícím případě s tím rozdílem, že na přirozeně napadené bramborové rostlině se ponechalo pouze požadované stadium larev. Ostatní nežádoucí stadia se odstranila. Při jednotlivých opakováních s touž látkou se ošetřovaly napadené rostliny třeba i těsně vedle sebe. Mezi aplikacemi různých látek vynechával se potom dostatečný prostorový izolační pás, z kterého se odstranila všechna vývojová stadia mandelinky bramborové. Každá látka byla studována průměrně na 50 jedincích požadovaného vývojového stadia.

Ošetření napadených rostlin jsme provedli 19. června 1957 mezi 11 hod. až 12,30 hod., při teplotě 22° C, relativní vzdušné vlhkosti 80 %, dávkami 5,5 kg/ha, 300 a 6 l vody/ha. Zároveň jsme založili pokus s ložiskovým olejem č. 107, s vodou a pokus kontrolní. Kontrolu účinnosti jsme prováděli vždy po 24 hodinách až do doby, kdy přirozená mortalita nepřesáhla 20 %.

Výsledky těchto pokusů ukazují, že vodní postřiky v množství 300 l/ha při stejných jinak dávkách účinné látky se ve svém účinku proti larvám II. vývojo-

VIII. Vodní postřik v dávce 6 l/ha

Vodní emulze s obsahem účinné látky v procentu	Množství účinné látky na 1 ha v g	Procento účinnosti na larvy II. výv. stadia za hodin			
		24	48	72	144
Kontrola		—	—	—	—
Voda	6000	—	—	—	—
7,5% DDT	412,5	77	99	100	100
5% DDT	275	41	83	92	93
2% γ HCH	110	72	90	94	95
1% γ HCH	55	61	91	95	95
0,5% γ HCH	27,5	59	77	84	87
7,5% DDT + 0,5% γ HCH	412,5 + 27,5	70	91	94	94
5% DDT + 1% γ HCH	275 + 55	90	100	100	100
2,5% DDT + 1,5% γ HCH	137,5 + 82,5	94	97	100	100

IX. Studený aerosol v dávce 5,5 kg/ha

Aerosolový roztok s obsahem účinné látky v %	Množství účinné látky na 1 ha v g	Procento účinnosti na larvy IV. výv. stadia za hodin			
		24	48	72	144
Kontrola		—	—	—	—
Ložiskový olej č. 107	5500	—	—	—	—
7,5% DDT	412,5	0	5	13	16
5% DDT	275	0	0	10	14
2% γ HCH	110	55	76	100	100
1% γ HCH	55	72	91	100	100
0,5% γ HCH	27,5	0	0	6	6
7,5% DDT + 0,5% γ HCH	412,5 + 27,5	0	5	15	41
5% DDT + 1% γ HCH	275 + 55	58	71	97	100
2,5% DDT + 1,5% γ HCH	137,5 + 82,5	50	74	98	100

vého stadia plně vyrovnají studeným aerosolům v množství 5,5 kg/ha. Nutno však uvážit, že tyto výsledky byly dosaženy za jinak ideálních podmínek pro aplikaci vodních postřiků, které jsou vytvořeny v použitém přenosném toximetru.

Vodní postřiky v množství 6 l/ha při zachování stejné dávky jsou ve svém účinku slabší. Zdá se, že toto malé množství vody nestačí dostatečně pokrýt ošetřovanou rostlinu. Účinky studených DDT, γ HCH aerosolů a jejich kombinací na larvy IV. vývojového stadia se prakticky vyrovnávají s účinky aerosolů aplikovaných letecky v okrese Písek. Škoda, že pro nedostatek pokusného materiálu nemohlo být toto srovnání provedeno i na IV. larválním stadiu, kde by rozdíly v účinnosti vodních postřiků byly ještě zřejmější.

Ze studovaných látek aplikovaných ve formě studených aerosolů v přenosném toximetru proti larvám IV. vývojového stadia mandelinky bramborové vykázal nejlepší účinek polycyklický chlorovaný insekticid Thiodan a analog DDT Methoxychlor. Ostatní látky této skupiny byly již ve svém účinku slabší. Z fosforových insekticidů s požerovým účinkem vykázal jistou, avšak nedostatečnou účinnost Potasan. Fosforové insekticidy se systemickým účinkem byly na larvy IV. vývojového stadia mandelinky bramborové prakticky bez účinku.

Aerosolový roztok s obsahem účinné látky v procentu	Obchodní označení účinné látky	Množství účinné látky na 1 ha v g	Procento účinnosti na larvy IV. vývojového stadia za hod.			
			24	48	72	144
Kontrola			—	—	—	—
Ložiskový olej č. 107		5500	0	0	0	0
10% 2, 2-bis (4-methoxyfenyl) 1,1,1-trichlorethan	Methoxychlor	550	27	30	62	100
10% 4, 5, 6, 7, 8, 8-hexachlor — 3a, 4, 7, 7a - tetrahydro — 4, 7 - methanoinden	Chlordan	550	0	35	46	56
10% 1, 4, 5, 6, 7, 8, 8 - heptachlor — 3a, 4, 7, 7a - tetrahydro — 4, 7, - methanoinden	Heptachlor	550	0	2	13	87
10% 1, 2, 3, 4, 10, 10 - hexachlor — exo — 6, 7 - epoxy — 1, 4, 4a, 5, 8, 8a - hexahydro — 1, 4 - endo, exo — 5, 8, — dimethanonaftalen	Dieldrin	550	0	2	25	73
5% 1, 2, 3, 4, 10, 10 - hexachlor — exo — 6, 7 - epoxy — 1, 4, 4a, 5, 6, 7, 8, 8a oktahydro — 1, 4 - endo, endo — 5, 8 - dimethanonaftalen	Endrin	275	0	20	55	56
10% (1, 2, 3, 4, 7, 7 - hexachlorbicyklo —) 2, 2, 1 (— hepten — 5, 6, — bisoxymethylensulfít)	Thiodan	550	28	65	93	100
5% 0, 0 - diethyl - 0 - (4 - methyl — 7 - kumarinyl) thiofosfát	Potasan	275	0	30	55	55
5% 0, 0 - diethyl - 0 - (2 - isopropyl — 4 - methyl — 6 - pirimidyl) thiofosfát	Diazinon	275	0	0	0	0
5% 0, 0 — diethyl — S — (2, 5 - dichlorfenylmerkaptomethyl) — dithiofosfát	Phenkapton	275	0	0	0	0
5% dimethylester 2, 2, 2 - trichlor — 1 - hydroxyethylfosforité kyseliny	Dipterex	275	0	0	6	14
5% bis- (dimethylamid) — fluorofosfát	Dimefox	275	0	0	0	0
5% oktamethylpyrofosforamid	OMPA	275	0	0	0	0
5% 0, 0 — diethyl — 0 — (2 - ethylmerkaptomethyl) thiofosfát	Demeton	275	0	0	0	0
5% 0, 0 — dimethyl — 0 — (2 - ethylmerkaptomethyl) thiofosfát	Metasystox	275	0	0	0	0
5% 0, 0 - diethyl — S — (2 - ethylmerkaptomethyl) — dithiofosfát	Thimet	275	0	4	4	4
5% 0, 0 - dimethyl — S — (2 - ethylmerkaptomethyl) — dithiofosfát	Thiometon	275	0	0	0	0
5% 1 - isopropyl - 3 - methylpyrazolyl - 5 - dimethylkarbamát	Isolan	275	0	0	0	0

Souhrn

V laboratorních pokusech byla hledána potřebná doba styku hmyzu s aerosolem ve vztahu k přímému jeho zasažení a k dodatečnému styku s látkou, přičemž bylo zjištěno, že minimální potřebná doba styku s látkou k dosažení maximálního účinku při přímém zasažení je 6 hodin. Odstraní-li se hmyz z ošetřeného prostředí před uvedenou dobou, účinek se snižuje a s přibývajícím časem se již nezvyšuje.

7,5 % a 5 % DDT studený aerosol ukázal se již na larvy IV. vývojového stadia nedostatečně účinný. V obou případech došlo již ke kuklení a líhnutí zdravých jedinců. γ HCH aerosol, jakož i kombinace DDT + γ HCH ve všech studovaných koncentracích, bez ohledu na přímé zasažení nebo dodatečný styk, vykázal na larvy IV. vývojového stadia prakticky stoprocentní účinek. V pokusech nedošlo ke kuklení larev. U brouků se ve stejném časovém údobí projevuje příznivěji jejich přímé zasažení.

DDT a γ HCH studené aerosoly i jejich kombinace vykázaly vysokou účinnost i proti dospělým broukům I. generace. Rychlejší účinek γ HCH je způsoben jeho těkavostí.

Srovnávací pokusy studených aerosolů s vodními postřiky v přenosném toximetru za použití stejného množství účinných látek, avšak různého množství vody ukázaly, že dávka 300 l/ha se v účinku na larvy II. vývojového stadia vyrovná studeným aerosolům, zatímco dávka 6 l vody na 1 hektar je ve svém účinku na toto stadium již slabší. Snižovaná účinnost je pravděpodobně způsobena nedostatečným pokrytím ošetřované rostliny.

Zadešťovací pokusy ukázaly, že srážky v množství 10 mm těsně před i po aplikaci snižují účinnost DDT aerosolu jak na larvy všech vývojových stadií, tak i na brouky. Účinnost 2 % a 1 % γ HCH aerosolu nebyla zadešťováním jak před aplikací, tak i po ní nijak ovlivněna.

Z polycyklických chlorovaných insekticidů, aplikovaných ve formě studených aerosolů v přenosném toximetru proti larvám IV. vývojového stadia mandelinky bramborové, vykázal nejlepší účinnost Thiodan a dále pak analog DDT Methoxychlor. Z fosforových insekticidů s požerovým účinkem vykázal jistou, avšak nedostatečnou účinnost Potasan. Fosforové insekticidy se systemickým účinkem byly prakticky proti studovanému stadiu larev neúčinné.

Ovicidní účinky studených DDT a γ HCH aerosolů i jejich kombinací nejsou uspokojivé. Pouze tam, kde došlo k přímému zasažení, projevil se určitý účinek, který, jak se zdá, byl způsoben spíše použitým rozpustidlem než insekticidem samotným.

Při laboratorním chovu mandelinky bramborové se ukázaly papírové krabice, opatřené vatou a určené k přezimování, jako naprosto nevhodné. Přirozená mortalita takto přezimujících brouků byla vysoká a přežilí jedinci nedosáhli nikdy té vitality jako jedinci, kteří přezimovali v přirozených podmínkách.

Literatura

1. Anonym: Agric. Chemic., 8, 8, 96, 1953. — 2. Finkenbrink W.: Nachrbl. D. Pflanzenschutzd., 8, 1835, 1956. — 3. Josepovits G., Joachim F.: Ann. Inst. Prot. Plant (Budapest), 5, 293, 1950. — 4. Koula V., Dúrasová M.: Zool. a entom. listy, III, 1, 47-54, 1954. — 5. Koula V., Dúrasová M.: Sborník ČSAZV, řada A, XXVII, 5, 401-422, 1952. — 6. Koula V., Dúrasová M.: Sborník ČSAZV, rostl. výr., 3, 1, 87-100, 1957. — 7. Koula V.: Sborník ČSAZV, rostl. výr., XXXI, 2, 133-148, 1958. — 8. Lonay A.: Chemie e Landbouw, 10, 6-7, 1956. — 9. Mandel W., Biegel W.: Agric. Chemic., 12, 3, 36-37, 127-131, 1957. — 10. Römer D.: Anz. f. Schädlingskunde, 30, 10, 174-176, 1957. — 11. Schwartz E.: Nachrbl. f. d. D. Pflanzenschutzd., 11, 3, 50, 1957.

Установление непосредственной и остаточной токсичности аэрозолей с содержанием некоторых хлорированных, полициклических и фосфорных инсектицидов с контактным и системным действием на колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say) в лабораторных условиях

В лабораторных опытах устанавливался необходимый срок контакта насекомых с аэрозолем в связи с непосредственным его действием и дополнительным контактом с веществом. При этих опытах было установлено, что минимальный необходимый срок контакта с аэрозолем для достижения максимального действия при непосредственном поражении вредителя составляет 6 часов. В том случае, если насекомые устраняются из зараженной среды до истечения 6 часов, действие аэрозоля снижается и в дальнейшем уже не повышается.

Обработка 7,5 % и 5 % ДДТ механическим аэрозолем личинок IV стадии развития оказалась недостаточно эффективной. В обоих случаях наблюдались еще закукливание и выплывание здоровых особей. γ гексахлоранный аэрозоль, а также и комбинации ДДТ + γ Гексахлоран во всех испытываемых концентрациях как при непосредственном поражении, так и при дополнительном контакте, оказывали на личинку IV стадии развития практически 100%-ое действие. При проведении этих опытов не наблюдалось закукливание личинок. На жуков за одинаковый период времени более благоприятно действует непосредственное их поражение. Обработка ДДТ и γ гексахлоранным механическим аэрозолем и их комбинациями оказалась высоко эффективной и против взрослых жуков I поколения. Более быстрое действие гексахлорана вызвано его летучестью.

Сравнительные опыты, проведенные с механическими аэрозолями и водными опрыскиваниями в переносном токсиметре при применении одинакового количества эффективного вещества, но различного количества воды, показали, что доза 300 л/га по своему действию на личинку II стадии развития выравнивается с действием механических аэрозолей, в то время как доза 6 л воды на 1 га действует на ту же стадию развития слабее. Снижение эффективности вызывается, вероятно, недостаточным покрытием обработанных растений.

Опыты, проведенные с дождеванием, показали, что осадки в количестве 100 мм непосредственно перед обработкой и после нее, снижают действие ДДТ аэрозоля как на личинки всех стадий развития, так и на жуков. Дождевание как перед обработкой, так и после нее не оказало никакого действия на эффективность двухпроцентного и однопроцентного γ гексахлоранного аэрозоля.

Из полициклических инсектицидов, примененных в форме механических аэрозолей в переносном токсиметре против личинок IV стадии развития колорадского жука, наилучшее действие проявилось у тиодана и аналога ДДТ метоксифлора. Из фосфорных инсектицидов в отношении объединения растений определенное, но недостаточное действие наблюдалось у потазана. Фосфорные инсектициды с системным действием против изучаемой стадии личинок практически оказались недействительными.

Овицидные действия механических ДДТ и γ гексахлоранных аэрозолей и их комбинаций в общем неудовлетворительны. Только там, где произошло непосредственное поражение вредителя, проявлялось известное действие, которое, однако, скорее вызывалось растворителем, чем самим инсектицидом.

При лабораторном разведении колорадского жука бумажные коробки с ватой, предназначенные для зимовки, оказались совершенно неподходящими. Естественная смертность зимующих таким образом жуков была высокой и выжившие особи никогда не достигали такой жизнеспособности, как зимовавшие в естественных условиях.

Ermittlung der direkten und residualen Toxizität von Aerosolen mit Gehalt an einigen chlorierten, polyzyklischen und phosphorhaltigen Insektiziden mit Kontakt- und systemischer Wirkung auf den Kartoffelkäfer (*Leptinotarsa decemlineata* Say) in Laborbedingungen

Es wurden Laborversuche angestellt, die auf die Ermittlung der erforderlichen Dauer der Berührung von Insekt und Aerosol ausgerichtet waren und zwar sowohl in bezug auf den direkten Kontakt, als auch auf die nachträgliche Berührung mit dem Mittel, wobei festgestellt wurde, daß die minimale, zur Erzielung einer maximalen Wir-

kung erforderliche Dauer der Berührung mit dem Stoff sich bei direktem Kontakt auf 6 Stunden beläuft. Wenn das Insekt aus der behandelten Umwelt vor Ablauf der genannten Zeitspanne entfernt wird, so verringert sich die Wirkung und erhöht sich im weiteren zeitlichen Verlauf nicht mehr.

7,5%ige und 5%ige DDT Kaltnebel (Aerosole) erwiesen sich in ihrer Wirkung bereits gegenüber den Larven des IV. Entwicklungsstadiums als unzulänglich. In beiden Fällen war bereits die Verpuppung und der Schlupf gesunder Individuen eingetreten. Ein γ HCH-Aerosol, sowie auch eine Kombination von DDT und γ HCH übten in allen kalten Konzentrationen, ohne Rücksicht auf direkten Kontakt oder nachträgliche Berührung, auf die Larven des IV. Entwicklungsstadiums faktisch eine 100%ige Wirkung aus. In den Versuchen trat keine Verpuppung der Larven ein. Bei den Käfern wurden während des gleichen Zeitraums in bezug auf die Kontaktwirkung günstigere Ergebnisse beobachtet.

DDT und γ HCH-Kaltnebel und deren Kombinationen wiesen auch gegenüber adulten Käfern der I. Generation einen hohen Wirkungsgrad auf. Die schnellere Wirkung des γ HCH ist auf seine Flüchtigkeit zurückzuführen.

Vergleichsversuche mit Kaltnebeln (Aerosolen) und Wasserspritzungen in einem übertragbaren Toximeter unter Verwendung der gleichen Wirkstoff-, jedoch einer unterschiedlichen Wassermenge ergaben, daß eine Gabe von 300 l/ha in ihrer Wirkung auf die Larven des II. Entwicklungsstadiums derjenigen des Kaltnebels gleichkommt, während eine Gabe von 6 l Wasser je ha eine schwächere Wirkung auf dieses Stadium ausübt. Die verminderte Wirksamkeit wird wahrscheinlich durch die ungenügende Bedeckung der behandelten Pflanze verursacht.

Beregnungsversuche ergaben, daß eine Niederschlagsmenge von 10 mm knapp vor und nach seiner Anwendung, die Wirkung des DDT-Aerosols sowohl auf die Larven aller Entwicklungsstadien, aus auch auf die Käfer herabsetzt. Die Wirkung von 2%igem und 1%igem γ HCH-Aerosol wurde durch die Beregnung sowohl vor, als auch nach seiner Anwendung in keiner Weise beeinflusst.

Von den polyzyklischen Insektiziden, die in Form von Kaltnebeln (Aerosolen) im übertragbaren Toximeter gegen Kartoffelkäfer-Larven des IV. Entwicklungsstadiums eingesetzt wurden, hatten Thiodan und analog DDT Methoxychlor die beste Wirkung. Phosphor-Insektizide mit systemischer Wirkung waren gegenüber dem untersuchten Larvenstadium faktisch wirkungslos.

Die ovizide Wirkung der DDT- und γ HCH-Aerosole und ihrer Kombinationen ist nicht zufriedenstellend. Nur dort, wo ein direkter Kontakt bestand, wurde eine gewisse Wirkung festgestellt, die scheinbar eher dem verwendeten Lösungsmittel als dem insektiziden Stoff zugeschrieben werden kann.

Bei der Zucht von Kartoffelkäfern im Laboratorium erwiesen sich mit Watte versehene und zur Überwinterung bestimmte Papierschachteln als vollkommen ungeeignet. Die natürliche Mortalität dieser überwinternden Käfer war hoch und die überlebenden Individuen erreichten niemals die gleiche Vitalität, wie jene, die in natürlichen verhältnissen überwinternten.

Determination of direct and residual toxicity of aerosols containing some chlorinated, polycyclic, and phosphoreous insecticides with contact and systemic effect for Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) in laboratory conditions

In laboratory conditions was investigated the time required for the contact of insect with aerosol regarding both to its direct and additional contact with insecticide, whereby it was found that the minimal time of contact with the material, which is necessary to attain the maximal effect in direct contact, is 6 hours. If the insect is removed from the treated space prior to mentioned time, the effect is decreased, and subsequently it doesn't increase more.

The 7,5 and 5% DDT cold aerosol showed to be insufficiently effective against the larvae of the 2nd stage of development. In both cases the pupation and hatching of healthy individuals took place. The γ HCH aerosol and the combination of DDT + γ HCH in all concentrations studied had practically a 100 % effect to the larvae of the 4th stage of development both in direct and additional contact. In the experiments no pupation of larvae took place. The direct contact of insects with the insecticide was more favourable in the same period of time.

The DDT and γ HCH cold aerosols and their combinations showed a high effectiveness even against mature beetles of the 1st generation. The quicker effect of γ HCH is caused by its volatility.

The comparative experiments with cold aerosols and water sprays in portable toximeter, if the same amount of effective matter but the different amount of water was used, showed that with regard to the effectiveness against the larvae of the 2nd development stage the dosage of 300 l per 1 ha equals to the cold aerosols, whereas the dosage of 6 l of water per 1 ha is less effective against the mentioned stage. The lower effectiveness is probably caused by an insufficient covering the treated plant with insecticide.

The raining experiments showed that the precipitation of 10 mm, induced immediately before and after application, caused the decrease of DDT aerosol effectiveness both against the larvae of all development stages and against the beetles. The effectiveness of 2% and 1% γ HCH aerosols was by no means influenced by raining induced both before and after application.

Among the polycyclic insecticides applied in the form of cold aerosols in portable toximeter against the larvae of the 4th development stage of potato beetle showed the best effectiveness Thiodan and the analogue matter to DDT — Methoxychlor. Among the phosphoreous insecticides with stomach poison effect showed a safe but insufficient effectiveness Potasan. The phosphoreous insecticides with systemic effect were practically ineffective against the studied stage of larvae.

The ovicide effects of cold DDT and γ HCH aerosols and their combinations are not satisfactory. Only in the cases where a direct contact occurred, a certain effect was apparent, which seemed to be caused more by the applied dissolvant than by the insecticide itself.

In laboratory breeding of Colorado potato beetle the carton boxes with cotton-wool designed for wintering appeared to be absolutely unsuitable. The natural mortality of beetles wintering in this manner was high, and the surviving individuals never attain the vitality of individuals wintering in natural conditions.

Vliv infekce houby *Beauveria bassiana* (Bals. - Criv.) Vuill. na larvy mandelinky bramborové *Leptinotarsa decemlineata* Say

Влияние инфекции гриба *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. на личинки колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say

Einfluß der Infektion mit dem Pilz *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. auf die Larven des Kartoffelkäfers *Leptinotarsa decemlineata* Say

Effect of Infection by the Fungus *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. on Larvae of the Potato Beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say.

A. SAMŠIŇÁKOVÁ

Biologický ústav ČSAV, oddělení patologie hmyzu

A. ČERMÁKOVÁ

Výzkumný ústav rostlinné výroby ČSAZV, oddělení ochrany rostlin

Předložil dr. J. Zakopal, dopisující člen ČSAZV

Došlo dne 21. X. 1958

Úvod

V rámci výzkumu možností boje s mandelinkou bramborovou jsme provedly pokusy s infekcí entomofágní houbou k prohloubení našich znalostí tohoto používaného prostředku biologického způsobu boje s hmyzem. Mandelinka bramborová (*Leptinotarsa decemlineata* Say) se ukázala vhodným objektem, protože její vývoj je dokonale znám, je možno ji snadno pěstovat a nadto jde o druh hospodářsky důležitý, takže lze počítat s tím, že by bylo možno použít jednotlivých výsledků pokusných prací i prakticky. Kromě toho je mandelinka bramborová druhem snadno přístupným infekci entomofágní houbou.

Houba *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., které jsme použily k infekci, je snadno pěstovatelná a z hospodářského hlediska významná hlavně pro svou polyfágnost. Kromě toho byla již proti mandelince použita, takže jsme se mohly opřít o literární údaje. Pokusy, které byly dosud konány, sledovaly hlavně účinek houby na mortalitu. Ve své práci jsme si všímaly průběhu onemocnění. Dále jsme chtěly zjistit, do jaké míry zasahuje houba do celkového metabolismu nemocných larev a jak se odráží v intenzitě dýchání infikovaných larev ve srovnání se zdravými.

Podle literárních údajů je vhodné používat popráchu sporami houby těsně před hibernací, protože v půdě jsou nejvhodnější podmínky pro vývoj houby (Dieuzeide; 3, 4), a proti larválním stádiím. Tímto způsobem bylo dosaženo průměrně asi 96 % mortality (Král, Neubauer, 6; Bloňská, 1, 2). Hoff

(5) uvádí až 100% mortalitu u larev 1., 2. a 4. stadia. Tyto údaje byly získány na základě laboratorních pokusů. Král a Neubauer (6) provedli pokusy i v přírodě a dosáhli 56–94 % mortality. Podobně jako Blońska doporučují kombinaci sporového materiálu s vhodným insekticidem. Imaga v době své aktivity jsou proti nákaze silně odolná. Dosud se nepodařilo úspěšně infikovat vajíčka.

Materiál a metodika

K pokusům jsme použily larev mandelinky bramborové 3. vývojového stadia, chovaných na nati *Solanum tuberosum* L. ve skleníku při průměrné teplotě 20° C. Infekce byla prováděna houbou *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., získanou z *Formica* sp. pasážováním přes krytonosce řepkového (*Ceutorhynchus napi* Gyll.) a mandelinku bramborovou. Sporový materiál nám byl poskytnut z mykologické laboratoře VÚRV inž. J. Krále m. Houba byla v čisté kultuře chována po dobu pěti měsíců na umělé živné půdě — bramborové kaši. Před pokusem jsme zjišťovaly klíčivost spor. Kmen měl stálou klíčivost 75 %. Bylo použito jednak postřiku vodní suspenzí spor, jednak poprachu čistých spor. Poprach byl z obou způsobů výhodnější, protože hustá vodní suspenze ucpávala dýchací otvory larev a tím nepříznivě ovlivňovala a zkreslovala výsledky pokusů. Infikované larvy byly chovány ve skleníku odděleně od zdravých, kontrolních larev, abychom předešly možnosti nahodilé infekce zdravých jedinců od nakažených. Na larvy určené k infekci byly spory nanášeny štětcem. Kromě toho byla sporami poprášena i živná rostlina, která byla po 24 hodinách nahrazena novou, již neinfikovanou natí.

Během pokusu jsme stanovovaly spotřebu O₂ u zdravých a infikovaných larev. Spotřebu jsme zjišťovaly na Warburgově respirometru obvyklým způsobem. Stanovení jsme prováděly denně ve stejnou dobu, aby nenastaly odchylky, způsobené změnami aktivity v denním cyklu larev. Larvy byly vloženy do respiračních nádobek o obsahu přibližně 23 ml. Jako absorpční tekutiny jsme použily 0,2 ml 2N NaOH. Měření jsme prováděly při 27° C. Po dvacetiminutovém vytemperování jsme přistoupily k vlastnímu měření, které probíhalo v 15minutových intervalech a trvalo celkem 1,5 hodiny. Po ukončení pokusu byly larvy zváženy a vysušením při 105° C získána sušina. Hodnoty spotřeby kyslíku jsme přepočítaly na 1 mg sušiny za 1 hodinu. K pokusům bylo použito celkem 400 larev.

Výsledky

Infekce se počala projevovat již 3. a 4. dne po poprášení sporami, kdy počalo černání larev. U jedinců, kteří byli slaběji infikováni suspenzí o hustotě spor 7 miliónů na 1 ccm nebo poprachem 0,5 g čistých spor, se objevily malé skvrny, které se stále rozšiřovaly, splývaly dohromady, až larva zahynula a celá zčernala. Zároveň s postupem infekce ztrácely larvy schopnost pohybu, začínaly slábnout a při sebemenším dotyku padaly s živné rostliny, zatímco zdravé larvy byly pevně přichyceny k listům. Toto zeslabení organismu se dá vysvětlit postupující infekcí houby, která zachvacuje všechny důležité orgány a spory, pronikající do haemolymfy, způsobují celkovou malátnost a ochablost zvířete. K opětovnému zpevnění těla dochází až po zahynutí larvy, kdy je celé tělo vyplněno myceliovými vlákny. Pátého až šestého dne po poprášení docházelo k prvnímu hynutí larev vlivem infekce, během 10 až 11 dnů zahynuly všechny infikované larvy. U silněji napa-

dených larev, infikovaných susp. o hustotě 20 mil. spor na 1 ccm nebo poprachem 1,5 g spor, probíhalo onemocnění rychleji a zvláště druhá fáze, projevující se černáním, trvala krátce, takže jsme u nich nezachytily postupné černání. Celkový průběh infekce je také do značné míry ovlivněn teplotou a hlavně jejím kolísáním během jednotlivých pokusů. Na uhynulých larvách, které byly vloženy do Petriho misky na navlhčený filtrační papír, se objevilo 3. až 4. dne bílé mycelium houby. Kontrolní larvy zůstaly téměř všechny během pokusu živé. U infikovaných larev byl vývoj zpomalen, větší část neprodělala 3. larvální svlékání, pouze menší část přešla do 4. stadia, ve kterém brzy zahynula, zatímco kontrolní larvy prodělaly svůj vývoj normálně a na konci pokusu (10. den) byly již v pokročilém 4. stadiu a připraveny k zalezení do země. Vliv infekce na mortalitu larev mandelinky bramborové je udán v tabulce I.

I. Vliv infekce na mortalitu larev

Den		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
stadium		3					4					
infik. larvy	počet živých jedinců	50	41	—	13	4	4	—	1	1	1	0
	% mortality	0	18	—	74	92	92	—	98	98	98	100
stadium		3					4					
zdravé larvy	počet živých jedinců	50	43	—	43	43	39	—	36	35	35	35
	% mortality	0	14	—	14	14	22	—	28	30	30	30

Další práce byla zaměřena k zjištění váhových změn infikovaných larev ve srovnání s larvami zdravými. Zvířata byla ošetřena stejně jako v předešlém pokuse a denně byla stanovena živá váha. Z počátku stoupá váha infikovaných larev rovnoměrně s váhou larev zdravých. V době, kdy jednotlivé černé skvrny počínají splývat a pokožka napadených larev se viditelně smršťuje, dochází ke zlomu. Zatímco váha zdravých larev dále stoupá, u infikovaných dochází k jejímu poklesu. Váhové změny zdravých a infikovaných larev jsou zaznamenány v tabulce II.

Vycházejíce z předpokladu, že se infekce projeví v celkovém metabolismu napadeného organismu, věnovaly jsme se sledování rozdílu ve spotřebě kyslíku u nemocných a zdravých larev. Hodnoty O_2 během infekce jsou vyjádřeny v grafu 1.

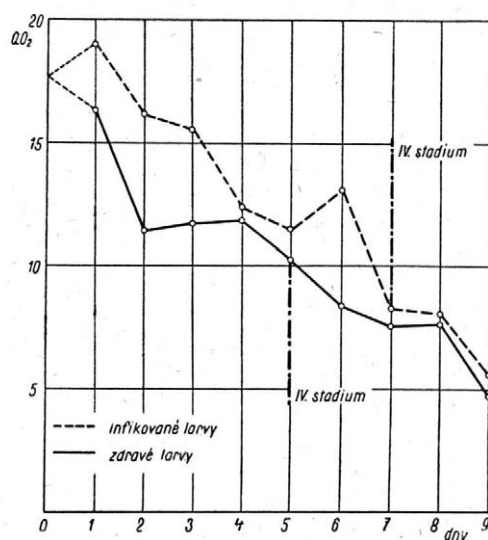
Jak je z grafu patrné, mají obě křivky sestupnou tendenci. U zdravých larev klesá spotřeba O_2 s rostoucí tělesnou váhou ve třetím a čtvrtém stadiu. U infikovaných larev by bylo možno vysvětlit pokles spotřeby O_2 postupující infekcí a tím i celkovým oslabováním organismu, vedoucím až k úplnému uhynutí larev. Měření spotřeby O_2 v grafu je vyjádřeno ve vztahu k larválním stádiím. Je nutno vzít zřetel na to, že u infikovaných larev, ačkoliv pokus proběhl ve stejném počtu dní, jako u zdravých, došlo k přechodu do 4. stadia pouze částečně a mnohem později, takže téměř celá křivka v sobě zahrnuje spotřebu O_2 ve 3. stadiu, zatímco za stejnou dobu křivka spotřeby O_2

II. Váhové změny zdravých a infikovaných larev

Den		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
stadium		3					4					
infik. larvy	živá váha mg	23,2	29,3	—	40,1	47,3	55,8	—	47,2	36	24,3	—
	procento počáteční váhy	100	126,2	—	172,8	203,8	240,5	—	203,4	155,1	104,7	—
stadium		3			4							
zdravé larvy	živá váha mg	23,2	29,9	—	43,7	57,2	69,1	—	90,6	122,9	144,7	135,2
	procento počáteční váhy	100	128,8	—	188,3	246,5	297,8	—	390,5	529,7	623,7	582,7

u zdravých larev zahrnuje stadium třetí a čtvrté. V den infekce jsme ještě měření neprováděli. Při porovnání křivek jsme vycházeli z předpokladu, že spotřeba O_2 v obou případech bude na počátku pokusu stejná. U infikovaných larev je spotřeba kyslíku během pokusu vyšší než u larev zdravých, což se dá vysvětlit podrážděním organismu a jeho reakcí na parazitaci. Srovnáme-li naměřené hodnoty u obou křivek ke konci 3. stadia, vidíme, že v tuto dobu je u infikovaných larev zaznamenána nižší spotřeba kyslíku než u larev zdravých. V tomto období dochází v napadeném organismu k postupnému zachvácení většiny orgánů, hlavně haemolymfy, parazitem, což má za následek celkové slábnutí organismu a s tím související stále zmenšování spotřeby kyslíku.

V křivce spotřeby kyslíku u infikovaných larev je zahrnuto i dýchání samotného parazita. Předběžné informativní pokusy s dýcháním sporového materiálu ukázaly téměř nulovou spotřebu kyslíku.



Graf 1. Spotřeba O_2 zdravých a infikovaných larev

Diskuse

Naše práce se může svým zaměřením srovnávat s prací Sussmana (7), který infikoval kukly *Platysamia cecropia* Walk. houbou *Aspergillus flavus* Link. Sledoval spotřebu kyslíku u infikovaných kulek a zjistil nejprve pozvolný přírůstek spotřeby kyslíku, který dosahuje svého maxima 6. dne po infekci, potom postupně klesá. Také v našich pokusech jsme pozorovaly zvětšený příjem kyslíku u nemocných larev. Na rozdíl od Sussmana však bylo dosaženo maxima ve spotřebě

kyslíku již 1. den po infekci. Časový rozdíl v maximu spotřeby kyslíku by mohl být vysvětlen rozdílem v aktivitě pochodů uvnitř těla larvy a kukly. Také pro vývoj houby je zřejmě vhodnější larvální stadium než kukla, kde dochází ke změnám ve stavbě organů i přeměně a zužitkování rezervních látek. Larvy poprasené sporami zvyšují metabolismus působením parazita, který počíná pronikat pokožkou, rozšiřuje se v těle a napadá jednotlivé orgány. Mimo to dochází vlivem pohybu larev k opakované infekci novými sporama rozšířenými v ovzduší a na listech živné rostliny. To podmiňuje zřetelnou reakci hostitelské larvy projevující se již v prvním dnu infekce. Přitom je nutno upozornit na názor, že houby bývají často pokládány za sekundární parazity organismů zeslabených jinou primární infekcí, což však z pozorování a sledování obou pokusů nevyplyývá. Rozhodně bude třeba dalších studií o tomto problému.

V další fázi onemocnění můžeme sledovat postupný pokles křivky, ke konci 3. stadia je spotřeba kyslíku u infikovaných larev zřetelně nižší než u zdravých ve stejné vývojové době. Souhlasně se Sussmanem dochází i v našich pokusech ke značnějším váhovým úbytkům infikovaných zvířat.

V další práci budeme sledovat na základě histologických preparátů podrobnější průběh celého postupu parazitace. Při zkoumání vlivu infekce houby na hmyz se objevilo ještě mnoho nevyřešených problémů, které bude nutno podrobně sledovat. Naše práce, ve které budeme pokračovat, je jen dílčím příspěvkem k jejich řešení.

S o u h r n

1. Při infekci larev mandelinky bramborové houbou *Beauveria bassiana* se ukázal jako nejlepší způsob infekce poprach čistými sporama houby.

2. Infekce se projevuje za dostatečného vlhka a teploty typickým černáním larev, které se objevuje při průměrné teplotě 20° C 3. a 4. dne po poprášení a vede k 100% mortalitě během 11 dnů po infekci.

3. V tabulce I je zachycen vliv infekce na mortalitu infikovaných larev ve srovnání se zdravými. V tabulce II jsou zachyceny změny živé váhy a sušiny infikovaných a zdravých larev.

4. Intenzita dýchání nemocných larev je během onemocnění zřetelně vyšší než u larev zdravých. Vlivem postupující parazitace dochází k silnějšímu úbytku kyslíku ke konci stejné vývojové fáze. Průběh pokusu je zaznamenán v grafu 1.

L i t e r a t u r a

1. Błońska A.: Badania nad florą grzybów owadobojczych występujących na stonke ziemniaczanej. Postepy nauk. roln., 3, 1, p. 134-8, 1956. — 2. Błońska A.: Patogeniczne grzyby stonki ziemniaczanej z rodzaju *Beauveria*. Roczn. nauk. roln. 74-A-2, p. 356-72, 1957. — 3. Dieuzeide R.: Les champignons entomophytes du genre *Beauveria* VUIL. Contribution à l'étude de *Beauveria effusa* VUIL., parasite du Doryphore. Ann. Epiph. Phytog. 5, 11, p. 185-219, 1925. — 4. Dieuzeide R.: Le *Beauveria effusa* VUIL., parasite du Doryphore de la pomme de terre. Rev. Zool. Agr. Appl. 25, 9-10, p. 129-34, 145-54, 1926. — 5. Hopf M.: Schwarzfleckenkrankheit des Kartoffelkäfers durch *Beauveria-Befall*. Nachrbl. dtsh. Pflschtd. (Berlin), 6, 5, p. 96-97, 1952. — 6. Král J. — Neubauer Š.: Použití entomofytních hub rodu *Beauveria* proti mandelince bramborové. Zool. ent. listy, 2, 4, p. 241-250, 1953. — 7. Sussmann A. S.: Studies of an insect mycosis. IV. The physiology of the host-parasite-relationship of *Platysamia cecropia* and *Aspergillus flavus*. Mycologia XLIV, 4, p. 493-505, 1952.

**Влияние инфекции гриба *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. на личинки
колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say**

1. При инфекции личинок колорадского жука грибом *Beauveria bassiana* наилучшим оказался способ инфекции путем опыливания чистыми спорами гриба.
2. Инфекция проявляется при достаточной влажности и температуре типичным почернением личинок, которое появляется при средней температуре 20°C на 3 и 4 день после опыливания и приводит к 100% смертности в течение 11 дней после инфекции.
3. В таблице I рассмотрено влияние инфекции на смертность инфицированных личинок по сравнению со здоровыми. В таблице II отмечены изменения живого веса и сухого вещества инфицированных и здоровых личинок.
4. Интенсивность дыхания больных личинок во время заболевания значительно выше, чем у личинок здоровых. Под влиянием повышающейся паразитации происходит более сильная убыль кислорода к концу той же фазы развития. Ход опыта отмечен в графике.

**Einfluß der Infektion mit dem Pilz *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. auf die
Larven des Kartoffelkäfers *Leptinotarsa decemlineata* Say**

1. Bei einer Infektion der Larven des Kartoffelkäfers mit dem Pilz *Beauveria bassiana* erwies sich die Bestäubung mit reinen Pilzsporen als das beste Infektionsverfahren.
2. Die Infektion tritt bei ausreichender Feuchtigkeit und Wärme durch das typische Schwarzwerden der Larven in Erscheinung, das bei einer durchschnittlichen Temperatur von 20° C am 3. und 4. Tag nach der Bestäubung auftritt und im Laufe von 11 Tagen nach der Infektion zu einer 100prozentigen Mortalität führt.
3. Tabelle I veranschaulicht den Einfluß der Infektion für die Mortalität der infizierten Larven im Vergleich mit den gesunden, Tabelle II die Veränderungen des Lebendgewichts und der Trockenmasse infizierter und gesunder Larven.
4. Die Atmungsintensität der kranken Larven ist während der Erkrankung im Vergleich mit den gesunden Larven sichtlich gesteigert. Durch den Einfluß der fortschreitenden Parasitierung tritt am Ende der gleichen Entwicklungsphase eine stärkere Sauerstoffabnahme ein. Der Verlauf des Versuchs ist graphisch dargestellt.

**Effect of Infection by the Fungus *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. on Larvae of
the Potato Beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say**

1. The best means of infecting larvae of the potato beetle with the fungus *Beauveria bassiana* was found to be infection by dusting with the pure spores of the fungus.
2. With sufficient moisture and warmth, infection shows itself by a typical blackening of the larvae which appears at an average temperature of 20° C on the third or fourth day after dusting, and leads to 100 % mortality in the first 11 days after infection.
3. Table 1 shows the effect of infection on mortality of the infected larvae as compared with the healthy ones. Table 2 shows changes in live weight and dry matter of the infected and the healthy larvae.
4. Intensity of respiration of the ill larvae is markedly greater during the illness than is that of healthy larvae. Because of gradually increasing parasitization, there is greater decline of oxygen toward the end of the same phase of development. The course of the experiment is shown on the graph.

Příprava diagnostických sér proti virům X, Y a S u bramborů imunizací skopců a koně

Подготовка диагностических сывороток против вирусов «X», «Y» и «S»
у картофеля путем иммунизации валухов и лошадей

Herstellung diagnostischer Sera gegen die Viren X, Y und S der Kartoffeln durch
Immunisierung von Hammeln und eines Pferdes

Inž. Josef NOHEJL, inž. Jan ČERVENKA

Výzkumný ústav bramborářský ČSAZV, Havlíčkův Brod

Předložil dopisující člen ČSAZV inž. dr. L. Hruška

Došlo dne 11. II. 1959

Úvod

Sérodiagnostika jako metoda zjišťování přítomnosti patogenních virů v rostlinách nachází stále širší uplatnění. O současném stavu využití sérologie při produkci bramborové sadby v různých státech jednala i mezinárodní konference o otázkách šlechtění bramborů, která se konala v únoru 1958 v Moskvě. Zde např. B u k a s o v (1958) poukazuje na vysokou organizaci šlechtění v Holandsku a uvádí některá čísla, dokumentující široké využití sérologie. Ve 13 provinciích jsou speciální, dobře vybavené laboratoře, provádějící denně stovky sérologických analýz. Každoročně se provádí 1,500.000 sérologických analýz. (Na každý hektar sadbových bramborů připadá kolem 150 rozborů a na každý hektar veškeré plochy kolem 10 analýz.)

D u n i n (1958) poukázal též na to, že v Holandsku během pěti let dosáhli (1951—1955) využitím sérologie na širokém základě u 66 odrůd bramborů odstranění virů X, Y a S.

V Sovětském svazu se výzkumem v oboru sérodiagnostiky zabývá Timirjazevoja zemědělská akademie, Vsesvazový výzkumný ústav rostlinné výroby v Leninogradě a dále Vsesvazový ústav bramborářský v Malachovce — moskevská oblast. Byla připravena diagnostická séra proti virům X, S a Y. Do budoucna jsou jako hlavní výzkumné úkoly zařazeny: příprava dalších specifických i polyvalentních sér, stanovení kmenů u jednotlivých virů, sledování jejich vlastností a zesílení imunizační aktivity virových antigenů.

Současný stav sérologického zjišťování virů u bramborů ve Francii vysvětluje ze zprávy inž. Z e m a n a (1958) o studijní cestě do Francie. Sérologické me-

tody se zde široce používá od roku 1948. Výroba diagnostických sér na viry X, S, Y a M je soustředěna v Landernau.

V NDR byl v poslední době v oboru sérodiagnostiky zaměřen výzkum na přípravu diagnostického séra na virus Y — Al kmen (Schick, 1958). Běžně se provádějí sérologické analýzy na zjišťování viru X, Y a S.

Z uvedených skutečností vyplývá, že sérologického vyšetřování se v současné době stále v širším měřítku používá ve všech zemích, produkujících ve větší míře sadbu bramborů. Má-li naše bramborářství zdravotním stavem sadby udržet krok s těmito státy, je třeba i u nás rozvíjet sérodiagnostiku na širokém podkladě.

V Československu započali se sérologickými metodami zjišťování X viru a s přípravou tohoto antiséra již v roce 1942 Jermoljev a Hruška (1947). Během dalších let, až do současné doby, nemá sérodiagnostika takové široké uplatnění, jaké této metodě náleží.

Prvním předpokladem k širšímu uplatnění sérodiagnostických metod je získání sér v množství, které by krylo potřeby šlechtitelských stanic a kontrolních ústavů. Až dosud byla u nás k přípravě antisér v rostlinné virologii imunizována malá zvířata, nejčastěji králíci. Vzhledem k perspektivnímu rozšíření sérodiagnostiky by příprava antisér tímto způsobem obtížně zajišťovala potřebná množství, nehledě k tomu, že by byly vysoké náklady na jejich výrobu. Je proto třeba věnovat pozornost využívání větších zvířat k imunologickým účelům; zde jsou podstatně sníženy výrobní náklady a s menším pracovním zatížením je dána možnost v kratší době získat větší množství antisér.

Z těchto důvodů byly v roce 1958 ve Výzkumném ústavu bramborářském řešeny úkoly, které sledovaly praktické možnosti využití větších zvířat k imunologickým účelům. Diagnostická séra byla připravována jednak imunizací skopců (X, XY), berana (S) a koně (X).

Vlastní práce

Příprava diagnostických sér imunizací skopců

S přípravou diagnostických sér na větších zvířatech jsme začali v květnu 1958. K imunizaci viru X jsme použili dva roční skopce o váze 50 kg. Antigen byl připravován z infikovaných listů tabáku metodou Pfankuch-Kauscheovou, popsanou Jermoljevem a Hruškou (1947). Imunizaci jsme prováděli v níže uvedených časových intervalech a dávkách:

- | | |
|-----------------------|-----------------------|
| 1. den 5 ml antigenu | 5. den 15 ml antigenu |
| 2. den 10 ml antigenu | 6. den 20 ml antigenu |
| 3. den 15 ml antigenu | 7. den odpočinek |
| 4. den odpočinek | 8. den 20 ml antigenu |

9. den 25 ml antigenu

18. den po skončení imunizace byl proveden odběr krve.

Antigen zahřátý na 37° C byl zvířeti vstřikován do krční žíly (véna *iugularis*); byl injikován většinou stojícím zvířatům (obr. 1), pouze byl-li skopek neklidný a citlivý, svázali jsme ho a položili na bok. Pro snadnou práci je důležité dostatečné odkrytí vény vystříháním vlny v místě, kde injikujeme, a správné natočení hlavy, aby véna *iugularis* byla dobře znatelná. Před zavedením injekční jehly do žíly uzavřeme odchod krve k srdci stlačením žíly v dolní části krku. Tím se žíla stane znatelná. Po zavedení jehly do žíly se přesvědčíme mírným nasátím

krve do injekční stříkačky, že konec jehly je v žíle, a pomalým tlačováním pístu vstříkujeme antigen. Snadnější je však zavést samostatnou jehlu do žíly a teprve po vytrysknutí krve nasadit na jehlu injekční stříkačku. Tento způsob je zvlášť vhodný tehdy, chceme-li před injekcí odebrat vzorek krve ke stanovení množství vytvořených protilátek. Při vstřikování uvolníme krevní oběh krční vény. Pro injikování antigenu jsme používali jehly č. 12.



1. Vstřikování antigena skopci do krční žíly

Krvácení zvířat jsme prováděli pouze odběrem částí krve z krční vény. Dobře živěným skopcům v dobré tělesné kondici jsme odebírali kolem 1000 ml krve. Odebranou krev jsme nenahrazovali fyziologickým roztokem. Při odběru krve jsme zvířata svazovali na nižším stolku. Pro získání většího množství čistého séra z krve je třeba krev odebrat do baňky, ponořené do vodní lázně s teplotou kolem 37°C ; pak dochází k rychlejšímu vytvoření krevního koláče.

Reakce skopců při imunizaci

Bezprostředně po vstříknutí antigenu není na zvířeti patrnější reakce, teprve po 30–40 minutách nastává chvění, provázené někdy kašláním. Tato reakce je silnější, zůstává-li zvíře po vstříknutí injekce v klidu. Snížení intenzity těchto zjevů napomáhá proběhnutí, případně tření hřbetu zvířete. Doba trvání této reakce je asi 10 minut; necháme-li zvíře v klidu, trvá déle. Ačkoliv v průběhu imunizace byly skopcům vstřikovány stále vyšší dávky, intenzita reakcí postupně klesala. Nikdy nenastala reakce tak silná, aby ohrozila život zvířete. To dává předpoklad, že bude možné dávky antigenu buď zvýšit, nebo imunizovat postupně stoupajícími dávkami delší dobu.

V průběhu imunizace byly odebírány skopcům vzorky krve pro možnost sledování postupného zvyšování titru získaného antiséra. Odběry krve jsme prováděli během imunizace ve dnech odpočinku (4., 7. a 10. den), dále vždy po třech dnech až do krvácení skopců. Po tomto datu byl sledován obsah protilátek v intervalech 7 dnů až do 41. dne od počátku imunizace. Pro stanovení titru antiséra byla použita jednak šťáva tabákových rostlin, infikovaných virem X a majících zřetelné symptomy napadení X virem, dále šťáva z listů odrůdy Č. Erstling, která je latentním nositelem viru X. Rostliny brambor byly v plném vývoji. Výsledky stanovení titru antiséra u tabáku i u Erstlingu nebyly rozdílné.

Obsah protilátek v krvi skopce byl zjištěn již při prvním odběru krve, čtvrtý den od počátku imunizace. Pozitivní reakce se šťávou infikovaného tabáku virem X probíhala ještě ve zředění 1/4. V dalším sledování se titr antiséra plynule zvyšoval a nejvyšší hodnoty dosáhl v období deseti dnů po skončení imunizace, kdy byl proveden hlavní odběr krve. Při stanovení množství protilátek 7 dnů po odběru krve bylo zjištěno, že jejich obsah se vzhledem k maximu snížil na polovinu a na této výši setrval tři týdny. Později nebyl titr zjišťován. Při aplikaci antigenu v uvedeném množství a časových intervalech je titr získaného séra stejný, jako při používání králíků. Pro možnost větších ředění antiséra bude třeba věnovat zvýšení titru další pozornost a zkoušet jiné způsoby přípravy i dávkování antigenu. Domníváme se, že rychle za sebou vstříkované, stoupající dávky antigenu působí příliš nárazově na reticuloendoteliální systém, který nemůže v plné míře produkovat protilátky, odpovídající množství injikovaného antigenu.

Příprava DX imunizací koně

Vedle skopců použili jsme k získání DX též imunizace koně. Příprava antigenu byla shodná jako při imunizaci skopců. Dávkování antigenu jsme zvolili v delších časových intervalech v následujících dávkách:

1. den 20 ml antigenu
8. den 50 ml antigenu
15. den 100 ml antigenu
22. den 50 ml antigenu
29. den 40 ml antigenu

Ke snížení dávek po 15. dnu imunizace jsme přikročili z toho důvodu, že kůň na vstříknutí 100 ml antigenu silně reagoval, dostavily se křeče a bylo tedy problematické dále aplikovat stejnou nebo případně vyšší dávku.

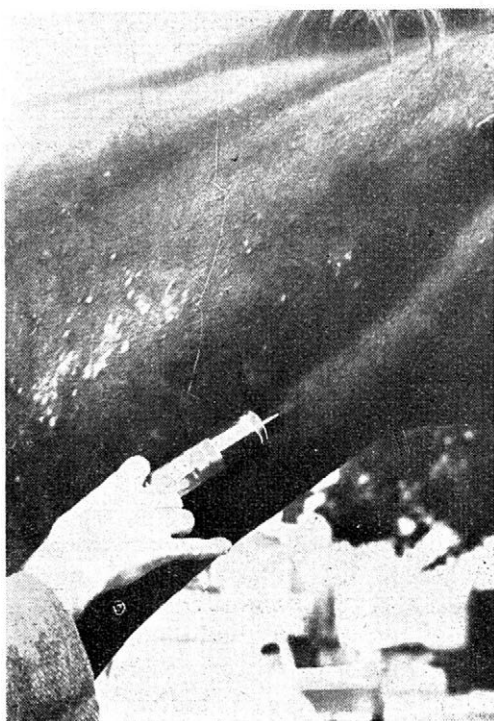
Vstřikování antigenu jsme prováděli jehlou č. 15 do vény *iugularis* (obrázek č. 2). Po zavedení samotné jehly do žíly jsme nejprve odebrali vzorek krve pro možnost průběžného určování titru antiséra po jednotlivých injekcích, po odebrání vzorku krve byl vstřikován antigen. Kůň je proti skopcům daleko citlivější na infekci, při vstříknutí i nepatrného množství antigenu mimo žílu dochází k lokálním zánětům. Při vstřikování většího množství antigenu normálním způsobem, kdy je jehla pevně spojena s injekční stříkačkou, může snadno dojít při nutné delší době injikování k vysunutí jehly ze žíly i při menších pohybech koně. Abychom odstranili tento nedostatek při imunizaci, nasazovali jsme mezi jehlu a injekční stříkačku pružnou hadičku z umělé hmoty, dlouhou 15–20 cm. Tímto způsobem jsme téměř vyloučili možnost vysunutí jehly ze žíly, neboť volné spojení jehly s injekční stříkačkou vyrovnává velmi dobře menší pohyby koně.

Při odběru krve je třeba lokálně umrtvit místo, kde budeme krev odebírat. V našem případě jsme před zavedením odběrové jehly do žíly použili lokálního

znecitlivění injekcí procainu. Tím jsme bez značnějších obtíží odebrali koni, 12 dnů po skončení imunizace, 5 litrů krve, aniž bychom tuto ztrátu nahrazovali (obr. 3). Po odběru nebyly patrné na koni znatelnější reakce. Podobně jako u skopců, i v tomto případě byla sledována tvorba protilátek v krvi. Před každou imunizací bylo k tomu účelu odebráno menší množství krve ke stanovení titru séra. Titr jednotlivých sér byl stanoven na štávkě tabáku, infikovaného X virem. I při poměrně malých dávkách antigenu (Holandané používají až 300 ml purifikovaného antigenu v jedné injekci — Van Slogteren,

I.

Injekce antigenu v množství ml	Titř séra (odběr krve 7 dnů po injekci)
20	1/16
50	1/32
100	1/64
50	1/128
40	1/128



2. Imunizace koně



3. Provádění odběru krve po imunizaci

1957) byla tvorba protilátek rychlejší než u skopců. Titry sér z odběru krve 7 dnů po každé injekci antigenu jsou uvedeny v tabulce I.

Při získání séra z koně dochází při správné manipulaci s krví pouze k velmi slabé hemolýze, což dovoluje získání velmi čistého nezabarveného séra. U skopců způsobuje hemolýza větší obtíže a při nedodržení správného uložení krve po odběru dostáváme často sérum s červeným zabarvením.

Příprava diagnostického séra proti viru S

Příprava antigenu

Pro přípravu antigenu viru S bylo použito listů bramborů odrůdy Wilpo. Rostliny byly předem vyzkoušeny na přítomnost viru S a X (sérum S na toto přezkoušení bylo připraveno dr. Jermoljevem ve VÚRV ČSAZV v Ruzyni).

S diagnostickým sérem S reagovaly všechny rostliny. Ojedinele pozitivně reagovaly i s diagnostickým sérem DX. Tyto rostliny byly z materiálu pro přípravu antigenu vyloučeny.

Antigen byl nejprve připravován podle metodiky Jermoljeva (1958) vysrážením virové bílkoviny kyselinou trichloroctovou. Tohoto antigenu jsme použili pro první dvě injekce. Z technických důvodů jsme tento způsob opustili a pro další imunizaci jsme připravovali antigen upravenou metodou Pfankuch-Kauscheovou. Imunizován byl beran.

Metodika přípravy antigenu S viru

Z omytých a osušených listů byla vymačkána šťáva na strojků na lisování ovocných šťáv (značka Tutti-Frutti) nejprve s povoleným regulačním šroubem. Tato první šťáva byla vylita a následovalo druhé lisování prvně rozdrčeného a hrubě lisovaného materiálu při úplném dotažení regulačního šroubu. Teprve tato druhá šťáva byla upotřebena pro přípravu antigenu. Tuto šťávu jsme čistili jednak filtrací přes vatou a dále promícháváním chloroformem přidáním v množství $\frac{1}{7}$ objemu šťávy po dobu 10–15 minut. Po odstranění chloroformu následuje první srážení síranem amonným, jímž šťávu nasatíme do 8 %. Srážení probíhá za mírného míchání a ukončíme je po úplném rozpuštění síranu amonného. Šťávu s rozpuštěným síranem amonným centrifugujeme 15 minut při 3000 ot./min. Sediment odstraníme a k supernatantu přidáme znovu síran amonný do 33 % nasycení. Srážení probíhá jako v prvním případě za mírného míchání a ukončujeme je 5 minut po rozpuštění síranu amonného. Následuje odstředování po dobu 20 minut při 3000 ot./min. Sediment několikrát opláchneme destilovanou vodou a pak jej dobře promícháme s fyziologickým roztokem v množství — $\frac{1}{5}$ původního objemu šťávy. Takto připravený antigen používáme k imunizaci. Dialýzu jsme neprováděli z toho důvodu, abychom zkrátili dobu od vymačkání šťávy z listů do imunizace. Přítomnost síranu amonného nepůsobila na imunizované zvíře viditelně nepříznivě. Pro každou injekci připravujeme čerstvý antigen.

Veškeré práce při přípravě antigenu provádíme v lednici, zchlazené na 0° C. K procesům, které je nutno provádět mimo lednici, používáme vždy zchlazených přístrojů a skla. (Jde hlavně o vylisování šťávy z listů.)

Imunizace berana

Stoupající dávky i celkové množství antigenu, injikované beranu, byly téměř shodné jako při imunizaci skopců proti X viru, zvolili jsme však delší časové inter-

valy mezi jednotlivými injekcemi. Beran byl imunizován v uvedených časových intervalech:

1. den 5 ml antigenu	8. den 15 ml antigenu
3. den 10 ml antigenu	11. den 20 ml antigenu
5. den 15 ml antigenu	15. den 20 ml antigenu
20. den 25 ml antigenu	

Tento pozvolnější způsob imunizace jsme zvolili z toho důvodu, že jsme předpokládali pozvolnější zatížení reticuloendoteliálního systému a tím i plynulejší a větší tvorbu protilátek než při aplikování stoupajících dávek v několika málo dnech. Plynulejší dávkování antigenu v delším časovém období pro vyšší tvorbu protilátek v séru doporučuje Matthews (1957) i další autoři. Při této pozvolnější aplikaci antigenu nastávají nepříznivé reakce po injekcích v menším rozsahu nebo vůbec k nim nedochází.

Krvácení berana imunizovaného proti viru S bylo provedeno též pouze odběrem části krve (800 ml) 5 dnů po skončení imunizace.

Přezkoušení antiséra proti viru S

Pro posouzení diagnostického séra proti viru S, připravovaného ve VÚB, jsme provedli srovnání s DS, připraveného ve VÚRV v Ruzyni. Přezkoušení bylo provedeno kapkovou metodou na klonech křížence 296/51 z VÚB. K analýze bylo vzato 89 výběrů. Z těchto 28 reagovalo pozitivně na virus S, 10 reakcí bylo nespecifických a 51 rostlin na virus S nereagovalo. Souhlasnost analýz udává tabulka II.

II. Porovnání diagnostických sér proti viru S, připravených ve VÚRV v Ruzyni a ve VÚB v Havlíčkově Brodě

Provedeno analýz	Pozitivní reakce na S vir	Z pozitivních reakcí			Nespeci- fických	Negativních reakcí
		souhlas- ných	pozitiv. jen s DS VÚRV	pozitiv. jen s DS VÚB		
89	28	22	1	5	10	51

Pro kontrolu byla obě séra proti viru S zkoušena na 20 zdravých semenáčích, v žádném případě nedošlo k pozitivní reakci. Při porovnání titrů obou antisér na šťávě z listů odrůdy Wilpo, napadených S virem, byla účinnost shodná — obě reagovala ještě při zředění 1/128.

Příprava bivalentního diagnostického séra DXY

K přípravě bivalentního séra na současné stanovení viru X a Y jsme použili skopců, které jsme před tím imunizovali proti viru X. Před počátkem imunizace virem Y bylo shledáno dostatečné množství protilátek proti viru X v krevním séru zvířat. Těmto dvěma skopcům byl vstřikován antigen viru Y ze dvou odrůd — každému z jiné odrůdy.

Výběr rostlin, příprava a aplikace antigenu

Antigen viru Y byl připravován ze šťávy rostlin odrůdy Mirka a Kotnov. Rostliny byly vybírány podle vnějších příznaků onemocnění a dále přezkušovány

sérologicky. Podle vnější symptomatiky jsme volili trsy se slabými příznaky onemocnění — počáteční nekrózou nervů, provázenou obvykle mozaikou nebo slabým kadeřavěním. Sérologicky jsme je přezkušovali antisérem na virus X a Y. DY nám dodal dr. Jermoljev. Šlo o sérum, připravené imunizací králíka Y virem z odrůdy Ackersegen. Rostliny reagující s tímto DY a nereagující na virus X byly materiálem pro přípravu antigenu. Virus S nebyl Jermoljevem (1958) u těchto odrůd zjištěn.

Pro každou injekci byl připravován čerstvý antigen stejnou metodou, kterou jsme používali u viru S. Celý pracovní postup probíhal v lednici, zchlazené na 0° C, mimo lednici byla na zchlazeném strojku pouze lisována šťáva z listů a dále byl antigen mimo lednici jen několik krátkých intervalů. Před injikováním byl antigen zahřát nejvýše na teplotu 20° C. Při pozvolném vstřikování nepůsobila tato teplota imunizovanému zvířeti žádné potíže. Dávkování i intervaly mezi jednotlivými injekcemi byly stejné jako při imunizaci viru S. Odběr krve pro získání antiséra byl u obou skopců proveden 5 dnů po skončení imunizace v množství 1065 a 1182 ml.

Přezkoušení účinnosti bivalentního diagnostického séra na viry X a Y

Bivalentní sérum XY, připravené ve VÚB, bylo porovnáváno se shodným diagnostickým sérem, připraveným ve Francii v sérologické laboratoři v Landerneau. Přezkoušení bylo provedeno inž. Fliegelm na šlechtitelské stanici ŠSP Keřkov. Analyzovány byly rostliny z kmenů odrůdy Mirka. Ze 170 provedených analýz reagovalo pozitivně 11 rostlin, z toho v 8 případech reagovala obě séra souhlasně, ve dvou případech byla pozitivní reakce pouze u antiséra VÚB a v jednom případě pouze u francouzského.

Při vzájemném porovnání našich diagnostických sér XY, kde jsme antigen připravovali k imunizaci jednoho skopce z nemocných rostlin odrůdy Mirka a druhého z odrůdy Kotnov, jsme v řadě analýz, prováděných na různých odrůdách, obdrželi vždy souhlasné výsledky. Dá se usuzovat, že jde o shodný kmen Y viru.

Výtěžnost séra z krve skopců

Při několika odběrech krve skopcům a beranům jsme zjišťovali výtěžnost séra. Množství séra získaného z těchto jednotlivých odběrů uvádí tabulka III.

III. Výtěžnost séra z krve skopců

Odběr číslo	Množství krve v ml	Získáno séra ml	V procentu
1	1065	436	41
2	1182	641	54
3	800	389	49
4	750	345	42
5	750	417	56
6	750	390	52

V celkovém množství získaného séra je zahrnuta i jeho menší část, slabě zabarvená hemolýzou. Výtěžnost se pohybovala od 41 % do 56 %. V průměru lze počítat, že z daného množství krve získáme necelou polovinu (48 %) séra. Při odběru značnějšího množství krve získáme větší podíl séra, necháme-li vytvořit krevní koláč v několika menších baňkách, místo jedné velké.

Získaná séra jsme konzervovali jednak 0,1 % roztokem merthiolátu (1 ccm tohoto roztoku na 9 ccm séra) a uchovávali jsme je v tekutém stavu, u většího množství séra jsme však používali mrazové sublimace. Zvlášť druhý způsob je vhodný pro distribuci a přechovávání diagnostických sér v praktickém šlechtitelském provozu, neboť není nutné uchovávat séra v lednici, kde se časem zakalí. Lyofilizované sérum se velmi dobře rozpouští a po rozpuštění je téměř čiré. Pro každý den můžeme připravit vždy takové množství séra, které spotřebujeme pro provedení plánovaného počtu analýz. S tímto způsobem konzervace diagnostických sér je nutno počítat při využívání sérodiagnostiky ve šlechtění, případně kontrole.

Diskuse

Výsledky naší práce dávají podklad pro získávání diagnostických sér imunizační skopců a koní. Vzhledem k tomu, že potřeba diagnostických sér bude v budoucnosti poměrně vysoká, bylo třeba hledat cestu pro jejich zajištění v dostatečném množství i kvalitě.

Příprava diagnostických sér imunizací králíků, dosud u nás používaná, by sice mohla zajistit potřebné množství antiséra, ovšem s daleko vyššími náklady i pracovním zatížením. Přitom by získané antisérum bylo vlivem přípravy na velkém počtu jedinců značně heterogenní, což by mohlo dávat i různé výsledky sérologických analýz. Nesouhlasnost výsledků by dále mohla zvyšovat i necentralizovaná příprava antisér jednak vlivem různého materiálu, používaného pro přípravu antigenu, jednak i různými způsoby přípravy antigenu, případně imunizace. Proto jsme s ohledem na tato fakta došli k závěru, že bude nejvýhodnější připravovat antiséra pro praktické potřeby šlechtění na větších zvířatech a jednou imunizací získat větší množství séra. Dále je nutné soustředit přípravu antisér na co nejmenším počtu míst a zajistit soustavnou kontrolu kvality diagnostických sér.

Využívání králíků pro získávání diagnostických sér bude mít i nadále své uplatnění, ovšem hlavně k výzkumným účelům pro sledování různých způsobů přípravy antigenu z různých hostitelů viru, pro výzkum způsobů imunizace apod.

Při imunizaci skopců jsme zvíře nezabíjeli, prováděli jsme pouze odběr části krve. Tímto způsobem je možné opakovat odběry v množství kolem 1000 ccm již po jednom měsíci. Předpokladem je samozřejmě dobře vyvinuté a živé zvíře. Za předpokladu, že bychom jednomu skopci během období, kdy je materiál pro přípravu antigenu, provedli odběr krve třikrát, obdrželi bychom kolem 1500 ml antiséra. Z hlediska ekonomičnosti práce je třeba, aby získané antisérum mělo dostatečně vysoký titr, který by zaručoval spolehlivost reakcí i při zředění séra 1 : 10. V takovém případě by bylo možné připravit na jednom skopci během zmíněného období asi 15 l antiséra.

Částečné odběry krve jsou v souladu i s tímto našim požadavkem — zvýšení obsahu protilátek v získaném séru. Bylo zjištěno, že je vyšší produkce protilátek u zvířat, která již byla imunizována před určitou dobou stejným virem než u zvířat, která jsou imunizována prvně. Tomu odpovídá i konečný titr diagnostického séra (Matthews, 1957, van Slogteren, 1957). Z uvedeného vyplývá, že je výhodné využívat jednoho zvířete pro přípravu určitého antiséra delší dobu.

Vedle tohoto způsobu zvyšování obsahu protilátek v diagnostickém séru bude třeba hledat jiné cesty. Jistě důležitý bude i způsob imunizace, jak pokud se týká

celkového množství injikovaného antigenu, tak i dávkování jednotlivých injekcí v určitých časových intervalech. Podle našich dosavadních zkušeností bude možné zvýšit množství antigenu jednotlivých injekcí i prodloužit dobu imunizace. V souvislosti s touto otázkou bude nutné věnovat pozornost také metodám přípravy antigenu, hlavně způsobům purifikace viru a zachování, případně zvýšení jeho imunologické aktivity.

Souhrn

Do současné doby byla u nás a většinou i v zahraničí diagnostická séra na rostlinné viry získávána z krve králíků. Naše práce se zabývá přípravou antisér proti některým virům bramborů imunizací větších zvířat. Je popsána metoda přípravy diagnostických sér na virus X imunizací skopců a koně, dále na virus S imunizací berana. Bylo též připraveno bivalentní sérum na viry XY na skopcích, kteří byli nejprve imunizováni virem X a později virem Y.

Při popisu přípravy jednotlivých antisér je uveden materiál a způsob jeho výběru pro přípravu antigenu, vlastní příprava antigenu, dávky a časové rozvržení jednotlivých injekcí při imunizaci. Zároveň je popsáno praktické provádění imunizace a reakce zvířat na vstřikovaný antigen.

Během imunizace a po jejím skončení byl u některých zvířat sledován obsah protilátek v krevním séru. V práci je též pojednáno o způsobu odběru krve a výtěžnosti séra i o způsobu konzervace.

Jsou uvedena i některá srovnání s odpovídajícími antiséry připravenými mimo VÚB (sérum na určení viru S z VÚRV Ruzyně, bivalentní sérum XY z Landernau, Francie).

Výsledky této práce dávají možnost přistoupit k běžné přípravě diagnostických sér na skopcích i koních a zajistit tak potřebné množství antisér pro šlechtitelskou i kontrolní praxi s menšími náklady i obtížemi, než je tomu u králíků.

Autoři děkují touto cestou za spolupráci při imunizaci koně MVDr Wirthovi, pracovníku okresního veterinářského střediska v Havlíčkově Brodě.

Literatura

1. Bukasov M. S.: Metody borby s vyrožděním i virusnými nemocemi kartofelja. Ministerstvo selskogo chozajstva (referát) 1958. — 2. Dunin M. S.: Resultaty i novye zadachi polucheniya i primeneniya protivirusnykh syvorotok dlja ozdorovleniya posadochnogo materiala i nekotorykh drugih kultur. (Referát na mezinárodní konferenci o otázkách šlechtění bramborů - Moskva 1958). — 3. Hamann U.: Provedění kontroly posadochnogo materiala v GDR. (Referát na mezinárodní konferenci v Moskvě - 1958.) — 4. Jermoljev E.: Bramborový virus S. Sborník ČSAZV, Rostlinná výroba, r. 4, č. 4, 1958. — 5. Jermoljev E., Hruška L.: Serologická metoda určování virových chorob u bramborů, 1947. — 6. Matthews R. E. F.: Plant Virus Serology. Cambridge University Press, 1957. — 7. Schick R.: Problemy proizvodstva kartofela i metody kontroly posadochnogo materiala v GDR. (Referát na mezinárodní konferenci v Moskvě - 1958.) — 8. Slogteren E.: Seriological Identification of Plant Viruses and Serological Diagnosis

of Virus Diseases of Plants. Am. Rev. Microbiol 11, 1957. — 9. Z a d í n a J.: Serologické metody ke stanovení rostlinných virů v bramborářské a šlechtitelské práci. (Referát na bramborářské komisi ČSAZV, Praha - 1957.) — 10. Z e m a n F.: Zpráva o studijní cestě ve Francii, 1958. — 11. Z e m a n F., L a u d a O.: Zpráva o studijní cestě v Holandsku, 1954.

Подготовка диагностических сывороток против вирусов «X», «Y» и «S» у картофеля путем иммунизации валухов и лошадей

До настоящего времени диагностические сыворотки для растительных вирусов у нас изготавливались из крови кроликов. Наша работа направлена на приготовление сывороток против некоторых вирусов картофеля путем иммунизации более крупных животных. Описывается метод приготовления диагностических сывороток против вируса X путем иммунизации валухов и лошадей и далее против вируса S путем иммунизации барана. Также была приготовлена двухвалентная сыворотка против вирусов XY на валухах, которые были сначала иммунизированы вирусом X а потом вирусом Y.

В описании приготовления отдельных сывороток приведен материал и способ его отбора для приготовления антигена, собственное приготовление антигена, дозы и распределение отдельных уколов при иммунизации по времени. Одновременно описано практическое проведение иммунизации и реакции животных на вводимый антиген.

В процессе иммунизации и после ее окончания у некоторых животных исследовалось содержание антител в кровяной сыворотке. В работе также описан способ взятия крови и приводятся данные о выходе сыворотки, а также описывается и способ консервирования.

Приведены также некоторые сравнения с соответствующими сыворотками, приготовленными помимо Научно-исследовательского института картофелеводства (сыворотка для определения вируса S из Научно-исследовательского института растениеводства в Рузыне, двухвалентная сыворотка XY из Ландерно - Франция).

Результаты этой работы дают возможность приступить к текущей подготовке диагностических сывороток на валухах и лошадях и обеспечить таким образом необходимое количество сывороток для селекционной и контрольной практики с меньшими затратами и трудностями, чем при использовании кроликов.

Herstellung diagnostischer Sera gegen die Viren X, Y und S der Kartoffeln durch Immunisierung von Hammeln und eines Pferdes

Bisher wurden diagnostische Sera gegen pflanzliche Viren bei uns und zumeist auch im Ausland aus Kaninchenblut gewonnen. Unsere Arbeit befaßt sich mit der Gewinnung von Antisera gegen einige Kartoffelviren durch die Immunisierung größerer Tiere. Es wird die Herstellungsmethode für diagnostische Sera gegen den Virus X durch die Immunisierung von Hammeln und eines Pferdes, ferner gegen den Virus S durch Immunisierung eines Widders beschrieben. Es wurde auch ein bivalentes Serum gegen die Viren XY auf Hammeln bereitet, die zuerst mit dem Virus X und später mit dem Virus Y immunisiert wurden.

Bei der Beschreibung der Herstellung der einzelnen Antisera sind Material und Art seiner Auswahl zur Bereitung des Antigens, die eigentliche Bereitung des Antigens, die Gaben und die zeitliche Aufteilung der einzelnen Injektionen bei der Immunisierung an-

gegeben. Gleichzeitig wird die praktische Durchführung der Immunisierung und die Reaktion der Tiere auf das eingespritzte Antigen beschrieben.

Während der Immunisierung und nach ihrer Beendigung wurde bei einigen Tieren der Gehalt an Antikörpern im Blutserum untersucht. Die Arbeit behandelt auch das Verfahren der Blutabnahme und die Serumausbeute, sowie auch das Konservierungsverfahren.

Es wurden auch einige Vergleiche mit den entsprechenden, außerhalb des Biologischen Forschungsinstituts bereiteten Antisera angestellt (Serum zur Bestimmung des Virus S aus dem Forschungsinstitut für Pflanzenbau in Ruzyně, das bivalente Serum XY aus Landernau in Frankreich).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ermöglichen es, an die laufende Herstellung diagnostischer Sera an Hammeln und Pferden heranzutreten und so die erforderliche Menge von Antisera für die züchterische und Kontrollpraxis mit geringeren Kosten und Schwierigkeiten bereitzustellen, als bei der Verwendung von Kaninchen.

Příspěvek k předpovědi fytoftory (*Phytophthora infestans*, Montagne, de Bary) podle minimální teploty a relativní vlhkosti vzduchu, pozorovaných na meteorologických stanicích

К вопросу прогноза фитофторы (*Phytophthora infestans*, Montagne, de Bary) в зависимости от минимальной температуры и относительной влажности воздуха, наблюдаемых на метеорологических станциях

Ein Beitrag zur Vorhersage des Kartoffelschimmels (*Phytophthora infestans*, Montagne, de Bary) gemäß minimaler Temperatur und relativer Luftfeuchtigkeit nach Messungen meteorologischer Stationen

Karel PEJML

Agrometeorologická observatoř HMŮ, Doksany

Došlo dne 26. I. 1959

Úvod

V roce 1955 bylo na agrometeorologické observatoři HMŮ v Doksanech empiricky odvozeno kritérium pro předpověď plísňě bramborové. Kritérium je založeno na sledování minimálních teplot a průměrné relativní vlhkosti v běžné meteorologické budce.

Naši snahou bylo zpřesnit empiricky odvozená pravidla a přesněji zjistit vztahy mezi minimálními teplotami a průměrnými relativními vlhkostmi v budce a v porostu. Námětem tohoto pojednání je řešení těchto vztahů pomocí korelací a regresních rovnic.

Pracovní postup

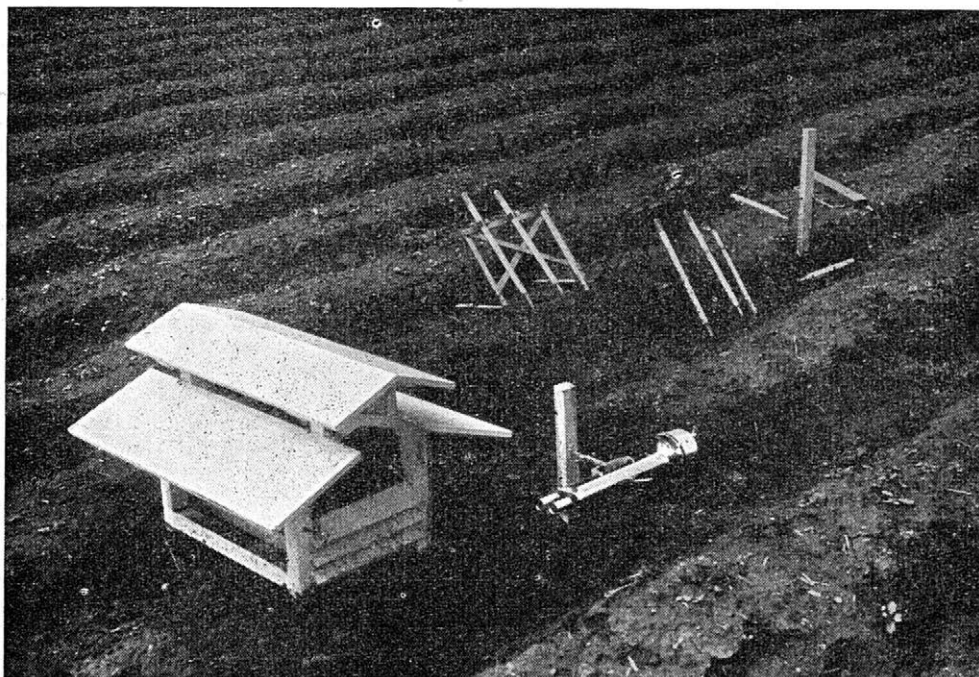
V roce 1958 byla od 17. V. do 12. VIII. prováděna na agrometeorologické observatoři HMŮ v Doksanech porovnávací měření mezi údaji přístrojů v běžné meteorologické budce (hladina 2 m) na měrném pozemku observatoře (stanoviště I.), v budce v hladině 20 cm na téže pozemku (stanoviště II.) a v budce v hladině 20 cm v bramborovém porostu (stanoviště III.).

Měření byla provedena v podstatě termografy a hygrografy, které byly na stanovištích II. a III. umístěny v tzv. polských budkách. Taková budka je znázorněna na obr. 1, který zachycuje základní uspořádání mikroklimatických měření. Zkušební měření byla prováděna již na poli, kde dosud nebyl porost.

Brambořiště (stanoviště III.) leželo ve vzdálenosti 200 m od stanoviště I. a II. v otevřeném, ventilovaném krajině. Bylo též výhodou, že v těsné blízkosti bram-

bořiště byl i pozemek, kde byla prováděna obdobná měření v roce 1957, takže bylo možno výsledky případně porovnávat.

Námětem měření vedle sledování řady meteorologických prvků (např. půdní teploty v hřebenu a v brázdě, profilů minimálních teplot v porostu, výparu v hladině 20 cm atd.) bylo zjištění vztahů mezi minimálními teplotami a průměrnými



1. Základní uspořádání měření

relativními vlhkostmi v běžné budce (hladina 2 m) a v porostu (hladina 20 cm). Tyto veličiny jsou podkladem naší předpovědi výskytu fytoftory a mají pro nás základní význam.

Přístroje byly před a po měřeních pečlivě přezkoušeny. Byly kontrolovány třikrát denně Assmannovým psychrometrem. U minimálních teploměru byly prováděny korekce každý třetí den a vynášeny do zvláštní listiny oprav. Bylo nanejvýš dbáno toho, aby nebyl poškozen porost u přístupu k přístrojům. Přístroje byly trvale instalovány, neboť všechny požadované zemědělské práce v okolí přístrojů prováděli zaměstnanci observatoře. Tato okolnost je důležitá např. při posuzování výsledků měření půdních teplot.

Agrotechnická data: brambory byly sázeny dne 6. V., váleny dne 7. V., vláčeny dne 24. V. a plečkovány dne 2. VI. První oborávka byla dne 9. VI., druhá dne 23. VI. Další agrotechnická data nejsou uváděna, poněvadž základní měření skončila po objevení se fytoftory.

Fenologická data: Počátek vzházení dne 24. V., všeobecné vzházení dne 28. V., první květ dne 27. VI., všeobecné kvetení dne 8. VII.

Fytopatologická data: První slabé známky napadení fytoftorou (sekundární infekce) byly zjištěny dne 9. VII., zřetelnější dne 11. VII. Pozorování byla pro-

váděna na odrůdách Bintje, Ackersegen a Krasava. Primární infekce nebyla zjištěna. V době kolem 1. VII. byl porost napaden hnědou skvrnitostí bramborových listů (*Alternaria solani* J. et Gr.).

Fytometrická měření jsou uvedena v tab. I (*h* značí výšku porostu).

I. Výška porostu v pentádách (26. V.—20. VII.).

I. Výška porostu v pentádách (26. V. až 20. VII.)

Dat.	26. V.	31. V.	5. VI.	10. VI.	15. VI.	20. VI.	25. VI.	30. VI.	5. VII.	10. VII.
<i>h</i>	4	7	11	16	24	35	42	47	52	58
					Dat.	15. VII.	20. VII.			
					<i>h</i>	65	75			

Po 20. VII. nebyl pozorován žádný přírůstek. Porost byl poškozen vichřicí v noci z 16. na 17. VII.

Stanovení korelačního koeficientu bylo provedeno podle vzorce:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n x'_i \cdot y'_i}{\sqrt{\left(\sum_{i=1}^n x_i'^2\right) \cdot \left(\sum_{i=1}^n y_i'^2\right)}} \quad (1)$$

Regresní koeficienty byly stanoveny podle vzorců:

$$a = \frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 \cdot \sum_{i=1}^n y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n x_i y_i}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_i\right)^2} \quad (2)$$

$$b = \frac{n \sum_{i=1}^n x_i y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_i\right)^2} \quad (3)$$

a podle nich pak vypočteny příslušné regresní rovnice.

Experimentální část

Experimentální část jsem rozdělil do dvou statí. V statí A se budu zabývat vlivem porostu na vytvoření vhodných mikroklimatických podmínek pro napadení a šíření fytoftory. Jako důležité rozhraní jeví se uzavření porostu.

V statí B se budu zabývat bližším řešením vztahů mezi minimálními teplotami a průměrnými relativními vlhkostmi v budce a v porostu a porovnáním vztahu minimálních teplot v budce a porostu, zjištěného v roce 1958 se stejným vztahem odvozeným z měření v roce 1957.

A. Uzavření porostu jako důležitá fáze v předpovědi fytoftory

V údobí okolo 20. června nastalo úplné uzavření porostu. Z grafů vyplývá, že uzavírání porostu bylo charakterizováno výraznou změnou v průběhu meteorologických prvků. Druhá taková změna nastala přibližně kolem 8. července, tedy v době všeobecného kvetení.

Uzavření porostu se projevilo v průběhu všech meteorologických prvků, ale různou intenzitou. Poměrně nejmenší změny byly u teplot vzduchu. Půdní teploty v hřebenu (v hloubce 10 cm) se lišily od půdních teplot ve stejné hloubce na trávníku průměrně o 1° C. Hřeben byl chladnější. Po uzavření porostu činil tento rozdíl již 2° C.

Není zajisté možno reprodukovatí průběh všech zkoumaných prvků, ale jako příklady uvádíme na grafu č. 1 průběh odchylek průměrné relativní vlhkosti v porostu (hladina 20 cm) od průměrné relativní vlhkosti v budce (hladina 2 m) a na grafu č. 2 průběh odchylek výparu v bramborovém porostu (hladina 20 cm) od výparu měřeného na měrném pozemku observatoře v téže hladině (výška trávníku na pozemku 5 cm).

Průběh uvažovaných prvků je znázorněn hlazenými průměry podle vztahu:

$$\frac{1}{5}(1 + \gamma_1 + \gamma_2) \cdot \mu_n \quad (4)$$

kde

$$\gamma_K \mu_n = \mu_{n-K} + \mu_{n-R} \quad (5)$$

Tento vztah se nám jevil pro přehledné znázornění jako nejúčelnější.

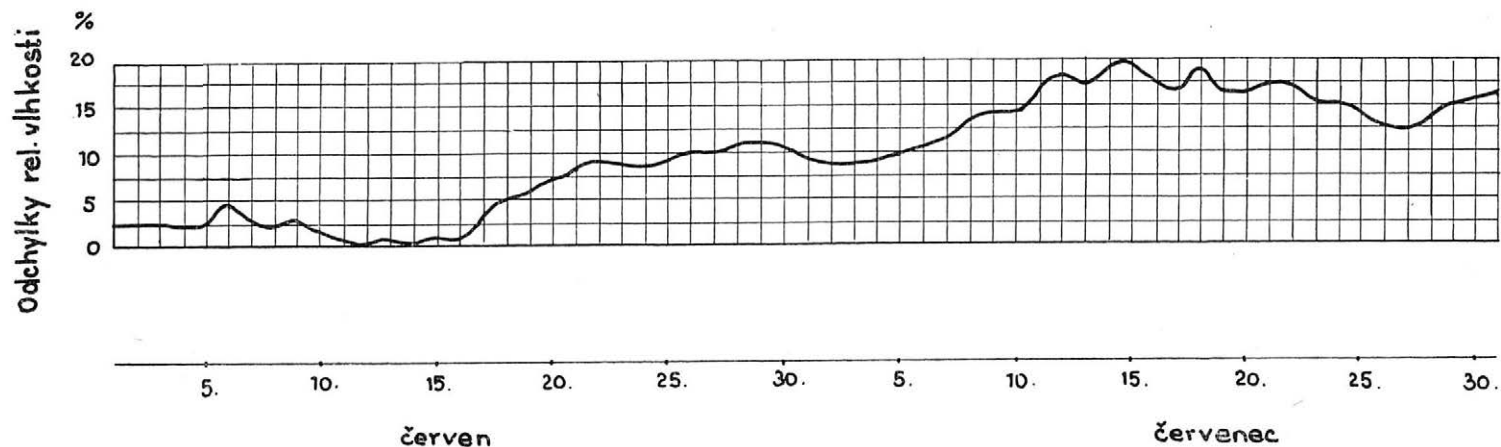
Z grafu č. 1 je patrné, že odchylka průměrné relativní vlhkosti v porostu od průměrné relativní vlhkosti v budce byla v neuzavřeném porostu malá. Patrná změna nastala teprve kolem 17. června, kdy se odchylka počala rychle zvětšovat (zhruba o 10 %). Zvětšení odchylky je ještě významnější asi od 8. VII., kdy odchylka činila až 20 %, zatímco v neuzavřeném porostu činila maximálně 5 %. Soudíme, že zvětšení odchylky bylo podmíněno uzavřením porostu, jeho bujnějším vzrůstem. Domníváme se také, že taková změna by mohla podstatně ovlivnit vnější prostředí pro vznik a šíření fytoftory.

Číselné sledování změn průměrné relativní vlhkosti, zvláště důležité pro náš úkol, je vyjádřeno v tabulce II, kde $\bar{x}$ značí průměr, m (jako druhý centrální moment) rozptyl, s směrodatnou odchylku a v variační konstantu, vyjadřující směrodatnou odchylku v procentech vzhledem k průměru.

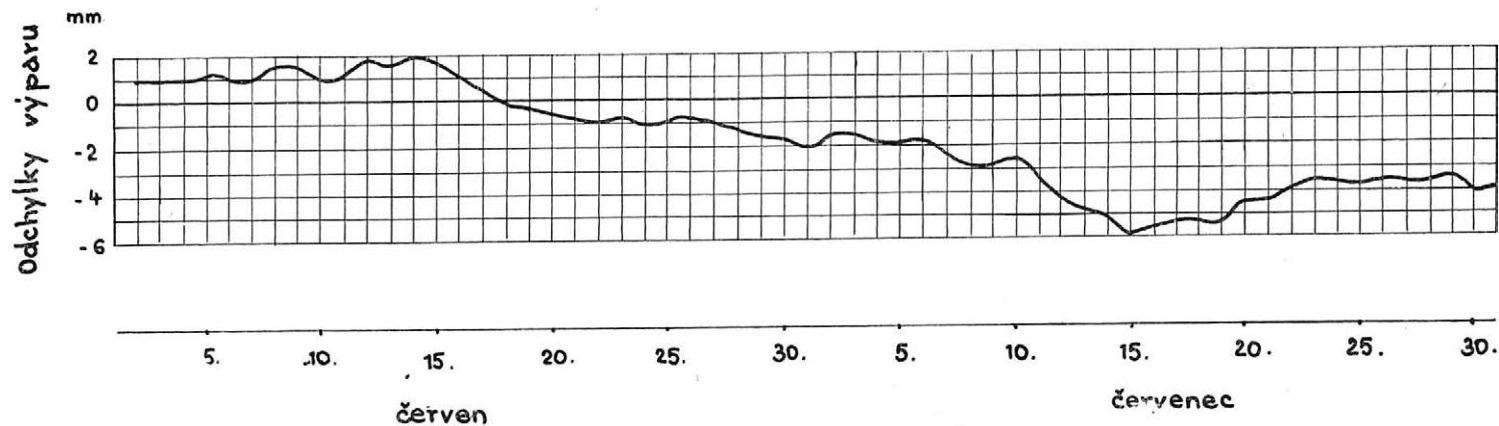
II. Průběh relativní vlhkosti na stanovištích I, II a III

Od 23. V. — 21. VI.			Od 22. VI. — 21. VII.		
budka 2 m	budka 20 cm	budka 20 cm (porost)	budka 2 m	budka 20 cm	budka 20 cm (porost)
$\bar{x}$ 72,50	77,66	75,50	77,17	83,33	89,50
m 82,25	68,94	112,92	58,47	41,56	30,25
s 9,07	8,30	10,63	7,65	6,45	5,50
v 12,51	10,68	14,07	9,91	7,74	6,14

Z tabulky II je patrné, že v údobí od 23. V. (počátek měření) do 21. VI., tedy v neuzavřeném porostu, byly hodnoty průměrné relativní vlhkosti v porostu průměrně o něco vyšší než v budce ve 2 m, ale nižší než v budce na trávníku



Graf 1. Průběh odchylek průměrné relativní vlhkosti v porostu (hladina 20 cm) od průměrné relativní vlhkosti v budce (hladina 2 m)



Graf 2. Průběh odchylek výparu v bramborovém porostu (hladina 20 cm) od výparu měřeného na měrném pozemku observatoře v téže hladině (výška trávníku na pozemku 5 cm)

v hladině 20 cm. Zřejmě se tu uplatňoval vliv neuceleného porostu a tedy i vliv holé půdy v bramborišti. To je zvláště patrné na širokém rozptylu řady.

V druhém údobí, od 22. VI. do 21. VII., tedy za dalších třicet dní vidíme, že v uceleném rostlinném krytu se podstatně zvýšil průměr (z 75,50 na 89,50), ale naopak se snížila směrodatná odchylka (z 10,6 na 5,5), a tedy i variační konstanta (ze 14,1 % na 6,1 %). Je tedy zřejmé, že průměrná relativní vlhkost se podstatně zvýšila, avšak její průběh byl stálejší, vyrovnanější a zřejmě méně podléhal makroklimatickým vlivům.

Uzavřené, neventilované porosty vytvářejí teplé a vlhké klima, zřejmě vhodné pro šíření plísňe bramborové.

Na grafu č. 2 je znázorněn průběh odchylky výparu v porostu (hladina 20 cm) od výparu nad trávnickem (hladina 20 cm) na měrném pozemku observatoře. Měření výparu bylo prováděno Picheovým výparoměrem. Z grafu je patrné, že odchylka výparu v porostu od trávniku se ustavičně zmenšuje. Tato sestupná tendence je zvláště zřetelná kolem 15. VI. a kolem 10. VII. Jak lze předpokládat, mají odchylka výparu a odchylka průměrné relativní vlhkosti prakticky opačný průběh.

Tato šetření byla prováděna proto, abychom si ověřili vliv uzavření bramborového porostu na tvorbu příznivých mikroklimatických podmínek pro vznik a šíření fytoftory. Tak např. podle naší metody je kritická perioda vyjádřena tak, že během dvou dnů nesmějí minimální teploty v běžné budce klesnout pod 11° C a průměrná relativní vlhkost vzduchu prvního dne nesmí klesnout pod 80 %, druhého dne pod 77 %. Tyto údaje jsou čerpány z meteorologické budky běžné staniční sítě.

Domníváme se, že tyto vhodné podmínky v hladině 2 m nemusí být provázeny vhodnými mikroklimatickými podmínkami v porostu. Mikroklima je sice ovlivňováno makroklimatem, ale též umístěním zkoumaného porostu v terénu a hlavně jeho růstem. Proto jsou u mikrometeorologických měření požadována fyto-metrická měření a váha rostlinné hmoty. Tento druhý požadavek je u nás neproveditelný, neboť observatoř nemá vlastní pokusná pole. Řešení vztahů mezi meteorologickými údaji v budce a v porostu je věnována druhá část této práce (oddíl B), ale nicméně bych rád předem upozornil, že vztahové přímkové průměrné relativní vlhkosti na grafu č. 5 se mění vlivem vývoje porostu. Usoúdili jsme z toho, že pozorování uzavření porostu a pozorování fenologická mohou být vhodnými vodítky pro posouzení mikroklimatických podmínek v porostu. Zjišťování úplného uzavření rostlinného krytu pro účely předpovědi by se provádělo vizuálně. Bylo by možné řídit se i fenologickou fází, totiž u kvetoucích odrůd prvním květem, ale zdá se, že úplné uzavření porostu předbíhá o jistou dobu (podle našich pozorování asi o 6 až 10 dní) první květ. Potvrzení této domněnky si vyžádá víceletá přesná vegetační pozorování u více odrůd, aby mohl být učiněn závěr, bude-li stanovení tohoto termínu platné či nikoliv. Dosud totiž nemáme delší řadu souběžných fenologických a fytopatologických pozorování v bramborovém porostu. Nepřímo je naše domněnka prokazatelná z Uhligova dokladového materiálu.

B. Vztahy mezi minimálními teplotami a průměrnými relativními vlhkostmi v budce (2 m) a v porostu (20 cm)

Pro předpověď fytoftory se snažíme využít normální staniční sítě, jelikož speciální mikroklimatická měření jsou nejen obtížná, ale i nákladná. Činí velké nároky jak na personál, tak i na přístrojové vybavení. Je také nutné uvážit, že jakkoliv relativní postup choroby je v rozličných bramborových porostech a do-

konce i v různých částech téhož bramborového porostu ovlivňován působením mikroklimatu v okolí hostitelských rostlin, přece mikroklima samo je ve velké míře závislé na makroklimatu. Zkušenosti potvrzují, že postup choroby v uvažovaném porostu těsně souvisí s charakteristickým rázem počasí, jak je zachyceno na běžných meteorologických stanicích. Považovali jsme za účelné zjistit vztahy mezi údaji přístrojů v běžné meteorologické budce a v budce v porostu (2).

Je to nutné především proto, že většina metod předpovědi fytoftory se z výše uvedených důvodů opírá spíše o meteorologickou budku rozsáhlé staniční sítě než o mikroklimatická měření v jednotlivých porostech.

B. 1. Vztahy mezi minimálními teplotami v běžné budce (2 m) a v budce v porostu (20 cm)

Z našich měření v roce 1958 byly pro průměrné teploty a minimální teploty stanoveny korelační koeficienty a regresní rovnice, jak jsou přehledně zachyceny v tabulce č. III.

III. R a regresní rovnice pro průměrné a minimální teploty (budka 2 m — budka 20 cm, porost)

Délka údobí	r	r^2	a	b	Reg. rovnice
Průměrné teploty 70 dní	0,947	0,897	1,110	0,901	$y = 1,110 + 0,901x$
Minimální teploty 60 dní	0,977	0,955	-0,949	0,990	$y = 0,990x - 0,949$

Jak je z tabulky zřejmé, je korelační koeficient r velmi vysoký. Proto jsme tyto výsledky, pokud jde o minimální teploty, které nás zajímají nejvíce, porovnali s měřením z roku 1957. Měření byla zpracována stejným způsobem, tj. byly vypočteny r a regresní rovnice. Jak již bylo podotknuto, nemusili jsme brát v úvahu rozdílný vliv reliéfu, poněvadž měření byla prováděna prakticky v stejném bramborovém porostu. Rozdíly byly jenom v počasí, jak ještě bude dále uvedeno.

Výsledky měření z let 1957 a 1958 jsou znázorněny v tabulce IV.

IV. R a regresní rovnice pro minimální teploty v letech 1957 a 1958 (budka 2 m — budka 20 cm, porost)

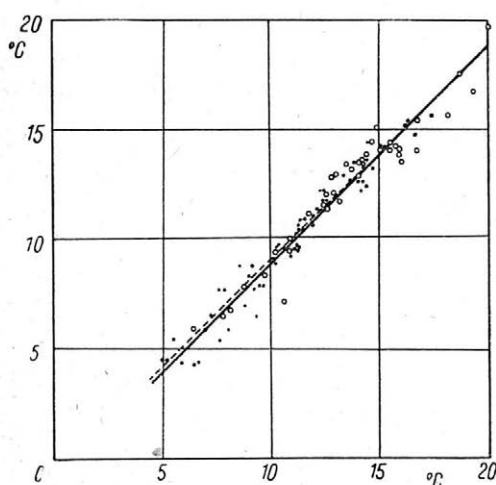
	Délka údobí	r	r^2	a	b	Reg. rovnice
Min. tep. 1957	40 dní	0,961	0,924	-0,760	0,973	$Y = 0,973x - 0,760$
Min. tep. 1958	60 dní	0,977	0,955	-0,949	0,990	$Y = 0,990x - 0,949$

Na grafu č. 3 jsou znázorněny vztahové přímky pro oba roky.

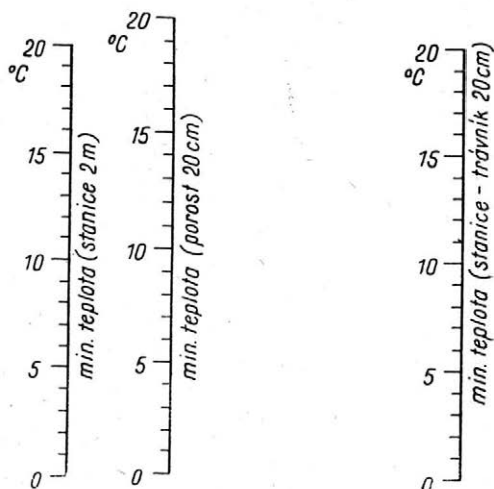
Vztahová přímka pro minimální teploty naměřené v roce 1957 je vytažena čárkovaně, vztahová přímka pro minimální teploty naměřené v roce 1958 je vytažena plně. Minimální teploty z měření v roce 1957 jsou zakresleny kroužky, z roku 1958 tečkami.

Je patrné, že výsledky z obou let jsou v poměrně dobré vzájemné shodě. Rozdíly jsou zřejmě vyvolány rozdílným počasím v obou letech. Lze však předpokládat mezi minimálními teplotami v běžné budce ve 2 m a v budce v porostu v hladině 20 cm lineární vztahy.

Pokud jde o sledování teplot v běžné budce ve 2 m a v budce v porostu v hladině 20 cm, bylo zjištěno, že u vyšších teplot jsou rozdíly vyšší, u nižších teplot



Graf 3. Znázornění závislosti mezi minimálními teplotami v létě 1957 a 1958 pro budku 2 m a budku 20 cm (porost). x = ve výšce 2 m, y = v porostu ve výšce 20 cm



Graf 4. Nomogram pro rovnici $y = 0,691x + 0,251z$

rozdíly malé, což potvrzuje známou skutečnost, že větší rozdíly vznikají za pěkného slunného počasí, zatímco zatažené, deštivé počasí rozdíly zmenšuje. To říká i naše regresní rovnice.

Bylo též přikročeno k sestrojení nomogramu znázorňujícího vztahy mezi minimálními teplotami v budce ve 2 cm, v budce na trávníku ve 20 cm a v budce v téže hladině v porostu.

Označme minimální teploty v budce ve 2 m jako x , minimální teploty v budce v porostu v hladině 20 cm jako y a minimální teploty v budce na trávníku v hladině 20 cm jako z . Byly zjištěny tyto korelační koeficienty:

$$r_{xy} = 0,977$$

$$r_{yz} = 0,965$$

$$r_{xz} = 0,974$$

Mnohonásobnou korelací (odhadujeme proměnou y pomocí x a z) dospěli jsme k rovnici

$$y = 0,691 x + 0,251 z$$

jejíž obecný tvar je

$$y = a_0 + a_1 + a_2 x$$

Volbou vhodného kanonického tvaru a příslušných modulů můžeme pak sestavit nomogram, který jest na grafu č. 4.

B. 2. Vztahy mezi průměrnými relativními vlhkostmi v běžné budce (2 m) a v budce v porostu (20 m)

Bylo-li možno uspokojivě zjišťovat vztahy mezi budkou a porostem, pokud se týkaly minimálních a průměrných teplot, nastávají při hledání podobných vztahů mezi průměrnou relativní vlhkostí v budce a v porostu nemalé potíže. Ukázalo se, že při řešení musíme vycházet ze tří oddělených fází ve vývoji bramborového porostu. Je to jasné z rozdílných korelačních koeficientů.

První fáze (od 23. V.—21. VI.), tj. do uzavření porostu $r=0,959$,

druhá fáze (od 22. VI.—8. VII.), tj. od uzavření porostu do všeobecného kvetení $r=0,948$,

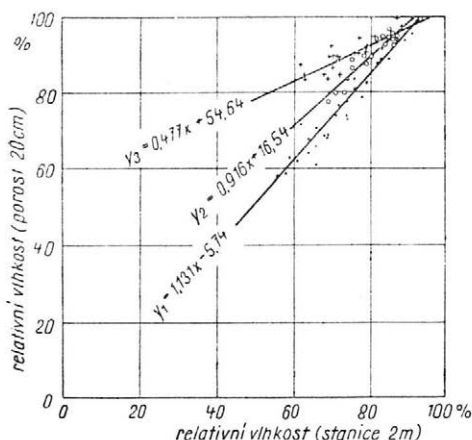
třetí fáze (od 9. VII.—31. VII.), tj. od všeobecného kvetení do konce měření $r=0,775 \pm 0,058$.

Na grafu č. 5 jsou znázorněny vztahové přímky vyhovující regresním rovnicím:

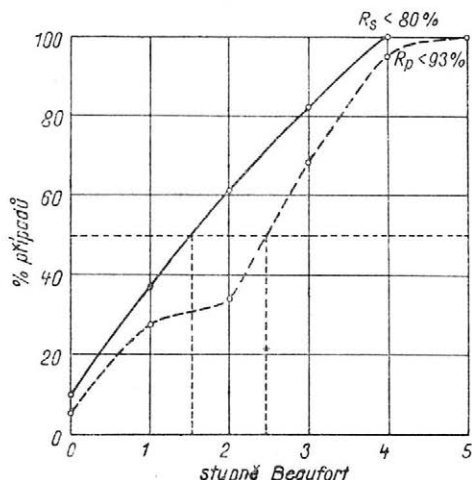
$$y = 1,131 x - 5,74 \text{ (I.)}$$

$$y = 0,916 x + 16,54 \text{ (II.)}$$

$$y = 0,477 x + 54,64 \text{ (III.)}$$



Graf 5. Znáznornění závislosti mezi průměrnou relativní vlhkostí v budce (2 m) a v porostu (20 cm) v jednotlivých fázích vývoje porostu (Doksany 1958)



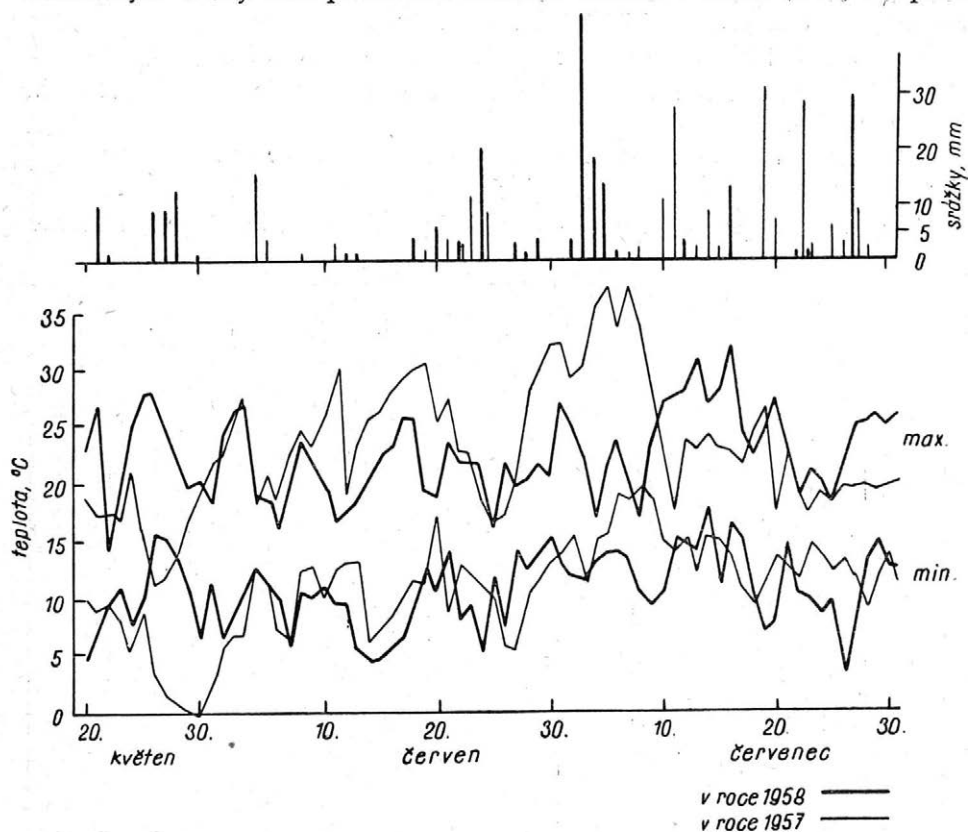
Graf 7. Vliv rychlosti větru na relativní vlhkost v budce (2 m) a v porostu (20 cm). R_s = relativní vlhkost na stanici ve 2 m, R_p = relativní vlhkost v porostu ve 20 cm

Vztahové přímky pro relativní vlhkosti v jednotlivých fázích

Při přepočítávání vztahů byl však nalezen uspokojivý vztah jen u první vztahové přímky ($y = 1,131 x - 5,74$). Příslušné hodnoty jsou na grafu vyznačeny tečkami. Vysvětlujeme si to tím, že v otevřeném, ventilovaném a řídkém porostu, kde, hlavně v počátcích, se ještě silně uplatňuje vliv holé půdy, není rozdíl mezi relativními vlhkostmi měřenými v budce a v porostu tak velký. Vysoká relativní vlhkost v budce je provázána ještě o něco vyššími relativními vlhkostmi v porostu. Nízká relativní vlhkost je provázána o něco nižší relativní vlhkostí v porostu. Tomu nasvědčují jednak praktické zkušenosti, např. že po dešti bývá vysoká relativní vlhkost v budce, ale ještě vyšší v porostu, jednak vysoký korelační koeficient.

Tyto vlastnosti však nejsou reprezentativní pro mikroklima bramborového porostu. To se projevuje na druhých dvou vztahových přímkách. V porostu je relativní vlhkost vždy vyšší než v budce. Rozdíly se zvětšují, čím je relativní vlhkost nižší, tj. např. za slunečného nebo větrného počasí.

Největší jsou rozdíly u třetí vztahové přímky na grafu $y = 0,477x + 54,64$, znázorňující vztahy mezi průměrnou relativní vlhkostí v budce (2 m) a v porostu



Graf 6. Chod minimálních a maximálních teplot a srážek v létě 1957 a 1958

(20 cm) v době plného kvetení a po něm. Tu jsou největší rozdíly mezi porovnávanými vlhkostmi a tyto rozdíly se silně zvětšují při nízkých relativních vlhkostech. Korelační činitel připouští v této poslední fázi již 40 % působení jiných faktorů. A toto odlišné chování relativní vlhkosti v porostu považujeme za typické pro mikroklima bramborového porostu.

Rozbor výsledků a diskuse

K zjišťování vztahů mezi teplotami v budce (2 m) a v porostu dal popud rozbor hodinových záznamů termografů v budce a v porostu. Když byly vyneseny do grafů a vzájemně porovnány, tu bylo zjištěno, že rozdíly v teplotách jsou velmi malé a že i chod teplot v budce na měrném pozemku a v porostu je přibližně stejný. Tyto tříleté zkušenosti nás přiměly k tomu, abychom se pokusili zjistit, existují-li skutečně těsné vztahy mezi teplotami v budce a v porostu. Byly zjištěny vysoké

Skutečné hodnoty	9,5	6,9	9,0	14,7	15,4	12,2	9,2	5,8	7,9	6,5	8,3	9,6	11,0
Vypočtené hodnoty	9,7	7,7	9,1	15,3	14,8	11,6	9,0	5,8	8,4	6,4	7,5	9,8	10,9
Rozdíly	0,2	0,8	0,1	0,6	0,6	-0,6	-0,2	0	0,5	-0,1	-0,8	0,2	-0,1
Skutečné hodnoty	10,3	7,9	4,3	10,3	9,7	10,6	8,9	7,7	4,3	4,5	4,5	4,2	5,3
Vypočtené hodnoty	10,5	8,4	5,3	9,8	10,0	10,6	9,4	6,7	5,0	4,3	4,3	5,0	6,1
Rozdíly	0,2	0,5	1,0	-0,5	0,3	0,0	0,5	1,0	0,7	-0,2	-0,2	0,8	0,8
Skutečné hodnoty	9,6	12,2	10,9	12,4	8,8	6,4	5,4	10,1	7,7	13,3	12,9	13,2	12,7
Vypočtené hodnoty	9,2	11,6	10,6	13,1	7,9	8,0	4,5	10,2	8,3	13,3	12,5	13,6	12,5
Rozdíly	-0,4	-0,6	-0,3	0,7	-0,9	1,6	-0,9	0,1	0,6	0,0	-0,4	0,4	-0,2
Skutečné hodnoty	12,7	11,7	11,7	13,5	14,1	13,5	11,0	10,5	9,6	10,7	15,2	14,1	14,4
Vypočtené hodnoty	12,6	11,1	11,7	12,9	13,9	13,1	10,6	10,0	9,3	9,9	14,8	13,7	13,6
Rozdíly	-0,1	-0,6	0,0	-0,6	-0,2	-0,4	-0,4	-0,5	-0,3	-0,8	-0,4	-0,4	-0,8
Skutečné hodnoty	12,6	11,0	15,6	12,2	9,7	7,7	8,8	11,4					
Vypočtené hodnoty	12,2	10,2	16,0	13,0	9,1	6,6	7,5	11,1					
Rozdíly	-0,4	-0,8	0,4	0,8	-0,6	-1,1	-0,8	0,3					

korelační koeficienty (pro průměrné teploty 0,947, pro minimální teploty 0,977). Podařilo se též tyto vztahy uspokojivě vyjádřit regresními rovnicemi a znázornit vztahovými přímkami.

Je však nutné uvážit také tyto dvě skutečnosti:

1. Je známo, že jsou-li veličiny spolu korelovány, seskupují se body přibližně v elipsách, jejichž osy nejsou rovnoběžné s osami souřadnic. Potom poměr délek poloos elipsy se mění podle korelační závislosti. Čím je tato závislost těsnější, tím se více zkracuje jedna z poloos elipsy. Přejde-li potom statistická závislost ve funkční, mění se elipsa v přímku a platí $r = \pm 1$. Avšak i pro vysoké r , např. $r=0,96$, je korelační pole znázorňováno elipsou, která se relativně méně liší od elipsy pro $r=0,78$ než elipsa korelačního pole pro $r=0,96$ od $r=1$. Chceme tím říci, že i při vysokých korelačních koeficientech, kterých jsme dosáhli, nepodařilo se nám plně vystižení vztahů mezi minimálními teplotami. Je to zřejmé z rozptýlů bodů na grafu č. 3. Způsobeno je to tím, že minimální teploty jsou ovlivňovány řadou faktorů, které prozatím nemůžeme vzít v úvahu.

Skutečná hodnota	9,5	6,9	9,0	14,7	15,4	12,2	9,2	5,8	7,9	6,5	8,3	9,6	10,3 11,0
Vypočtená hodnota	10,0	7,7	9,0	15,5	15,2	11,2	9,8	5,9	8,5	6,2	7,8	10,2	10,3 10,8
Rozdíly	0,5	0,8	0,0	0,8	-0,2	1,0	0,6	0,1	0,6	-0,3	-0,5	0,6	0,0 -0,2
Skutečná hodnota	7,9	4,3	10,3	9,7	10,6	8,9	7,7	4,3	4,5	4,5	4,2	5,3	12,2 9,5
Vypočtená hodnota	8,4	5,6	10,1	10,1	10,8	9,1	6,5	4,9	4,0	4,2	5,4	6,6	11,3 9,5
Rozdíly	0,5	1,3	-0,2	0,4	0,2	-0,2	1,2	0,6	-0,5	-0,3	1,2	1,3	-0,9 -0,1
Skutečná hodnota	10,9	12,4	8,8	6,4	5,4	10,1	7,7	13,3	12,9	13,2	12,7	12,7	11,7 11,7
Vypočtená hodnota	10,2	13,3	8,0	8,2	4,5	10,1	8,1	13,2	12,2	13,6	12,9	12,5	11,3 11,4
Rozdíly	-0,7	0,9	-0,8	1,8	-0,9	0,0	0,4	-0,1	-0,7	0,4	0,2	-0,2	-0,4 -0,3
Skutečné hodnoty	13,5	14,1	13,5	11,0	10,5	9,6	10,7	15,2	14,1	14,4	12,6	11,0	12,2 15,6
Vypočtené hodnoty	12,7	13,9	13,3	10,8	10,1	9,2	10,1	15,1	14,2	13,4	13,1	10,4	13,0 16,2
Rozdíly	-0,8	-0,2	-0,2	-0,2	-0,4	-0,4	-0,6	-0,1	0,1	-1,0	0,5	-0,6	0,8 0,6
Skutečná hodnota	9,7	7,7	8,8	11,4									
Vypočtená hodnota	9,2	6,8	7,5	11,0									
Rozdíl	-0,5	-1,0	-1,3	-0,4									

V tabulce VI jsou uvedeny skutečné a zjištěné hodnoty pro vztahovou přímku z grafu číslo 3, znázorňující vztah mezi minimálními teplotami (2 m) a v budce (20 cm) v porostu. Tento vztah byl, jak známo, udán rovnicí $y = 0,990x - 0,949$.

2. Mezi vztahovými přímkami z let 1957 a 1958 jsou jisté, byť i malé rozdíly. Tyto rozdíly je nutné přisuzovat jediné počasí, neboť vliv reliéfu můžeme z důvodu, který jsme již uvedli, zanedbat.

Chod minimálních a maximálních teplot a srážek je znázorněn na grafu č. 6. Silněji vytažené čáry značí průběh zjišťovaných meteorologických prvků v roce 1958, slaběji vytažené čáry v roce 1957.

Hlavní rozdíly v maximálních teplotách byly koncem května, kdy maxima v roce 1958 byla vyšší, v červnu, ale především v červenci, kdy maxima teplot v roce 1957 byla podstatně vyšší. Tak maximum v červnu 1958 činilo $27,1^{\circ}\text{C}$, v červnu 1957 $32,7^{\circ}\text{C}$. V první dekádě v červenci 1958 činilo maximum $27,5^{\circ}\text{C}$ (10. VII.), avšak v téže dekádě v červenci 1957 činilo $37,9^{\circ}\text{C}$ (7. VII.). U mi-

minimálních teplot byly patrné rozdíly v poslední květnové dekádě (minima v roce 1957 podstatně nižší), v první a poslední červencové dekádě, kdy minima v roce 1957 byla vyšší. U srážek nejsou rozdíly tak nápadné.

Jakkoliv uváděné tři prvky necharakterizují úplně počasí, přece jenom přispějí k jednoduchému znázornění rozdílů mezi oběma roky. Květen 1957 byl chladnější a sušší než květen 1958 (16,5 mm srážek v květnu 1957, 75 mm srážek v květnu 1958) a naopak červen, a hlavně počátek července 1957 byl značně teplejší než stejné období v roce 1958.

Přes všechny tyto rozdílné vlivy podařilo se poměrně dobře vystihnout závislosti mezi minimálními teplotami, což je patrné z přezkoušení nomogramu na grafu č. 4 a vztahové přímky na grafu č. 3.

Jak je z tabulek patrné, je nomogram přesnější, poněvadž je vypočten ze tří vztahů, avšak i zjišťování minimálních teplot pomocí vztahové přímky skýtá uspokojující výsledky.

Pokud se týče relativní vlhkosti a jejích vzájemných vztahů v budce (2 m) a v budce v porostu (20 cm), tu je nutno konstatovat, že jsme se zabývali pouze průměrnými relativními vlhkostmi, tak jak je požaduje naše předpověď. Počítali jsme také s „průměrným“ počasím.

Nízký koeficient korelační v třetí fázi vývoje porostu si vysvětlujeme právě působením větru. Naše vztahové přímky zahrnují právě tak bezvětrné dny, jako dny s větrem o různé síle. Jelikož se pokoušejí řešit vztahy mezi uzavřeným a neventilovaným porostem a ventilovanou budkou, bude nutné sestavit ke vztahovým přímkám II a III tabulky oprav na vítr. Je totiž zřejmé, že s proměnlivým větrem se budou měnit hodnoty na ose X (relativní vlhkosti v budce). Těmito relativně velkým změnám však odpovídají jen nepatrné změny relativní vlhkosti v porostu.

Zkoušeli jsme takové předběžné řešení. Sestavili jsme pro období od 9. VII. do 31. VII. tabulku četnosti větru, ze které jsme zjišťovali, kolikrát a při jakých rychlostech klesla relativní vlhkost ve volném ovzduší pod 80 % nebo stoupla na 80 % více a kolikrát za stejných podmínek klesla pod 93 % nebo stoupla na 93 % a více v porostu. Četnosti byly sestaveny z 552 hodinových měření. Částečné výsledky jsou sestaveny na grafu č. 7, kde jsou znázorněny relativní vlhkosti v budce (< 80 %) a v porostu (< 93 %) v procentech všech případů v závislosti na síle větru v Bft.

Z grafu č. 7 je patrné, že síla větru asi 1,5 Bft (průměrná rychlost cca 6 km/hod.) nemá ještě rozhodný vliv na změnu vlhkosti ve volném ovzduší, neboť je stejné procento případů s vyšší i nižší relativní vlhkostí. Tato mez je však u porostu dosažena teprve asi při 2,5 Bft (průměrná rychlost větru cca 12 km/hod.). V prvním případě je vztah prakticky lineární. V druhém případě (pro relativní vlhkost v porostu nižší než 93 %) je takový, že větší změně rychlosti větru odpovídá jen malá změna v procentech všech případů.

Z grafu vysvítá, že vliv větru na změnu relativní vlhkosti v porostu je daleko menší než na změnu relativní vlhkosti ve volném ovzduší. Tím si také můžeme vysvětlit větší rozptyl bodů na vztahové přímce (III) a vůbec nižší korelační koeficient v poslední fázi (v třetí) vývoje porostu.

Souhrn

1. V tomto předběžném sdělení jsme se pokusili zjistit vztahy mezi minimálními a průměrnými teplotami v běžné meteorologické budce (2 m) a v budce v porostu (20 cm) a podobné vztahy za stejných podmínek i pro průměrné relativní vlhkosti.

2. Vztahy mezi minimálními teplotami byly uspokojivě vyřešeny stanovením korelačního koeficientu a regresní rovnice, znázorněné vztahovou přímkou. Zjištěné vztahy odpovídají očekávaným fyzikálním skutečnostem. Pro úplnost byl sestaven nomogram řešící rovnici $y = 0,691 x + 0,251 z$.

3. Při hledání podobných vztahů pro průměrné relativní vlhkosti v běžné meteorologické budce (2 m) a v budce v porostu (20 cm) bylo konstatováno, že tyto vztahy jsou složitější a bylo při tom upozorněno na rozdílné korelační koeficienty a regresní rovnice v růstových fázích porostu. Byly zkoumány tři tyto fáze, lišící se chodem meteorologických prvků.

4. Při sledování vlivu rychlosti větru na průběh relativní vlhkosti byla stanovena kritická hranice síly větru pro porost 2,5 Bft, pro ovzduší (hladina 2 m) 1,5 Bft.

5. Byl sledován vliv porostu na průběh relativní vlhkosti. Bylo zjištěno, že fyto-metrická měření nepostačují, ale že je nutné doplnit je vážením zelené hmoty. Tato měření jsou u nás neproveditelná, poněvadž observatoř nevlastní žádná pokusná pole.

6. Bylo stanoveno, že při uzavření porostu dochází k závažné změně meteorologických prvků.

Literatura

1. Borke P. M. A.: The Forecasting from Weather Date of Potato Blight and other Diseases and Pests, Geneva, 1955. — 2. Uhlig S.: Untersuchungen zum Problem der Phytophthora-Warnungen, Bad Kissingen, 1957.

К вопросу прогноза фитофторы (*Phytophthora infestans*, Montagne de Bary) в зависимости от минимальной температуры и относительной влажности воздуха, наблюдаемых на метеорологических станциях

В этой предварительной работе приведены некоторые замечания к прогнозу фитофторы в зависимости от минимальной температуры и относительной влажности воздуха в климатической будке. Здесь вычислены и обсуждены корреляционные коэффициенты и регрессивные уравнения отношений между средними минимальными температурами и климатической будке (2 м) и в будке в насаждении (20 см), а также средней относительной влажности. Результаты сравнивались с результатами измерений прошлого года. При применении многократной корреляции составлена номограмма для определения минимальной температуры на уровне культуры в 20 см. Точность номограммы проверена и составлены таблицы. Обращается внимание на три различных фазы развития растения, зарисованы прямые соотношения и выведены регрессивные уравнения. Рекомендуются проводить прогноз фитофторы по доксанскому методу, причем состояние сомкнутости культуры считается нулевым.

Ein Beitrag zur Vorhersage des Kartoffelschimmels (*Phytophthora infestans*, Montagne, de Bary) gemäß minimaler Temperatur und relativer Luftfeuchtigkeit nach Messungen meteorologischer Stationen

In dieser vorläufigen Mitteilung werden einige Bemerkungen zur *Phytophthora*-Vorhersage gemäß der Minimaltemperatur und relativer Feuchtigkeit angegeben. Die Korrelationskoeffiziente und die Regressionsgleichungen werden für die Beziehungen zwischen der Minimaltemperaturen und der durchschnittlichen Temperaturen in der Klimahütte (2 m) und im Bestand (20 cm) und auch für die durchschnittliche relative Feuchtigkeiten berechnet. Die Ergebnisse betreffend der Minimaltemperaturen werden mit den Ergebnissen des vorigen Jahres (1957) verglichen. Durch die mehrfache Korrelation wird ein Nomogram für die Minimaltemperaturen abgeleitet. Die Verlässlichkeit des Nomogramms wurde geprüft und die Ergebnisse tabeliert. Es wird auf drei verschiedene Phasen in der Bestandentwicklung, für die Regressionsgleichungen abgeleitet und die Beziehungsgeraden eingezeichnet werden, hingewiesen. Der Bestandschluß als Nulldatum wird für die *Phytophthora*-Vorhersage nach Doksaner Methode empfohlen.

Příspěvek k poznání některých morfologických a fyziologických vlastností houby *Helminthosporium sativum* P. K. a B.

К вопросу познания некоторых морфологических и физиологических свойств гриба *Helminthosporium sativum* P. K. B.

Beitrag zur Erkenntnis einiger morphologischer und physiologischer Eigenschaften des des Pilzes *Helminthosporium Sativum* P. K. und B.

Inž. Zdeněk KOŠTÁL

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Praha

Došlo dne 28. III. 1959

Ú v o d

Mezi nejzhubnější choroby našich kvalitních pivovarských ječmenů patří *helminthosporiosis*. Jsou tím nebezpečnější, že i při slabším výskytu, který výši sklizně podstatně neovlivní, značně porušují stejnoměrnost klíčení a tím bezprostředně narušují jejich sladovnickou hodnotu.

V březnu 1954 izoloval Z a c h a z obilek ječmene (Hanácký Kargyn), sklizeného na pozemcích Výzkumného ústavu pro travoplní soustavu, u nás dosud nezjištěné *Helminthosporium sativum* P. K. a B. Jde o parazita, který zvláště v některých mimoevropských zemích nebezpečně ohrožuje porosty ječmene a pšenice a způsobuje značné škody. O rozšíření této houby u nás nemáme zatím přesné podklady.

K bližšímu poznání některých morfologických a fyziologických vlastností této houby byla provedena řada laboratorních a polních zkoušek.

Helminthosporium sativum Pamm, King a Bakke (syn. *Helm. acrothaeicioides* Lindfors, *H. gramineum* E. C. Johnson, *H. inconspicuum* Saccardo, *H. sorokinianum* Sacc., *Ophiobolus sativus* Ito a Kurib.) bylo, jak je již částečně z velkého počtu synonym zřejmé, předmětem mnoha omylů v literatuře.

První zmínka o něm se objevila roku 1891 a týkala se houby *Helminthosporium sorokinianum*, která byla nalezena Sorokinem v jižní Usurijské oblasti v Rusku. Její konidie byly později popsány Saccardem (*Sylloge fungorum*, 1922, str. 415—16). V roce 1910 byla Pammem, Kingem a Bakkem popsána choroba ječmene ve státě Iowa, která bez dalších srovnávacích kultivačních pokusů byla pojmenována *Helminthosporium sativum* P. K. a B. Později se ukázalo, že její charakteristika byla shodná s parazitem, nalezeným Sorokinem. Lindfors v roce 1918 našel v porostu ječmene ve Švédsku houbu,

kteřou pojmenoval *Helminthosporium acrothaeicioides*. I v tomto případě, jak se později zjistilo, šlo o *H. sativum*.

Helminthosporium sativum bylo zjištěno nejen na ječmeni, ale vyskytovalo se i na pšenici a kukuřici a řadou autorů bylo mylně identifikováno (Zöbl, 1892, Puchner, 1897, Ravn, 1900, Mass, 1910). K mylné identifikaci přispívala i skutečnost, že *H. sativum* vytváří četné biotypy, z nichž mnohé se liší jak morfologií, tak i patogenitou, přičemž okruh hostitelů je značně rozsáhlý.

Okruh rozšíření a hostitelé

Výskyt této houby byl zjištěn ve Švédsku (Lindfors 1918), v Kanadě (Güssow, 1912), ve státě Dakota a Minesota (Bolley, 1910), na Jawě (Palme, 1918), v Granite City Illinois (Stevens, 1920) a v severní Itálii (Bassi, 1921).

Vážné škody houba způsobila v J. Wallesu — dosahovaly až 90 % množství sklizně (Hamblin, 1922, Raedler, 1922). Poprvé se vyskytla epidemicky v Severních a Středních státech amerických. Zprávy o rozšíření udává i Gorlenko (1951). Uvádí, že *H. sativum* je rozšířeno hlavně v teplejších oblastech SSSR (Ukrajina, Krasnodarská oblast, Voroněžská oblast, Azerbejdžan, Dálný východ).

Parazituje hlavně na ječmeni a pšenici, byl však zjištěn výskyt i na kukuřici (Snowden, 1921). Christensen (1923) uvádí 32 druhů hostitelských rostlin, Gorlenko (1951) uvádí 40 druhů hostitelských rostlin.

Symptomatika

První příznaky choroby jsou patrné již na mladých rostlinkách. Na koleoptyle se objevují tmavohnědé až černé skvrny, které postupují směrem dovnitř. Rostliny z napadených zrn mají bazální pochvu zažloutlou, počet zárodečných kořínků zredukovaných a kortikální tkáň zbarvenou hnědě.

Silněji napadené rostliny se vyznačují nadměrným odnožováním, avšak většina odnoží vůbec nevymetá. Uvedené příznaky jsou výsledkem primární infekce.

Zdrojem sekundární infekce, ke kterému dochází v příznivých podmínkách (vlhko, teplo), jsou konidie z napadených rostlin, které se šíří hlavně větrem a vodou.

Začátkem června, nejčastěji po vymetání, můžeme pozorovat na listech a stéblech skvrny v různém stadiu. Nejdříve jsou skvrny světle hnědé, žlutavě lemovány, v pozdějším stadiu je barva skvrn čokoládově hnědá až černá. Velikost skvrn kolísá od 3 do 20 mm délky, od 0,5 do 3 mm šířky. Při silnějším napadení dochází ke splývání skvrn, list usychá, odumírá, skvrny blednou a zbývající část čepele šedne. Při mikroskopickém zjištění je možno v místech nekrotických skvrn zjistit vystupující konidiofory ve shlucích po dvou až třech, často i po jedné, nesoucí konidie, které se snadno oddělují a jsou tak zdrojem další infekce. *H. sativum* napadá i klas, a to jak na plevách, tak i na obilkách. Charakteristická je černá skvrna na bázi napadeného zrna. Klíčivost napadených obilok je značně snížena. Při silném napadení jsou klasy hluché. Přenos se děje hlavně semenem a půdou.

Morfologie

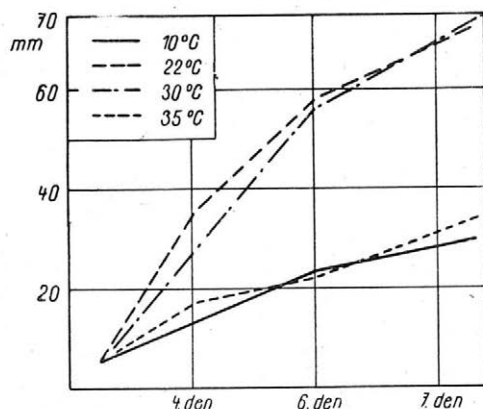
Houba se velmi snadno kultivuje na běžných živných půdách. Mycelium je zprvu bílé, později šedne, až černá. Konidiofory přehrádkované, šířka kolísala

v umělé kultuře od 6–9 μ , zelenohnědé, s kolénkovitě zahnutými hrboly v místech, kde nasedaly konidie. Konidie se tvořily ve vzdálenosti 55–70 μ od báze, jsou vretenovité, olivově zelené, na koncích eliptické, v některých případech zašpičatělé. Jejich velikost je velmi variabilní a je nepřímo úměrná živnému prostředí. V umělé kultuře kolísala délka konidií od 25 do 117 μ , šířka od 12 do 20 μ . Počet sept kolísal od 1 do 10. Přehrádky jsou kolmé k podélné ose. V živném prostředí s nadměrným množstvím glukózy byly konidie často bezseptální – subsferické. Zralé konidie jsou opatřeny tlustou periferní stěnou a nápadným hilem. Na konidioforech jsou konidie umístěny buď jednotlivě, nebo ve svazečcích po 3 až 5. Perithecia jsou popisována (Butler, Dickson, 1949) jako černostěnné, kruhovitě, nebo polokruhovitě, měřící od 340 do 530 μ (v průměru 370 μ). Vřečka jsou cylindrická a obsahují 1 až 8 ascospor, které jsou zbarveny olivově zeleně a mají 6–13 přehrádek. Velikost spor kolísá od 160–360 μ . Výskyt perithecií v přírodě je poměrně řídký a nepodařilo se mně jej zjistit ani v laboratořích, ani při polních pokusech.

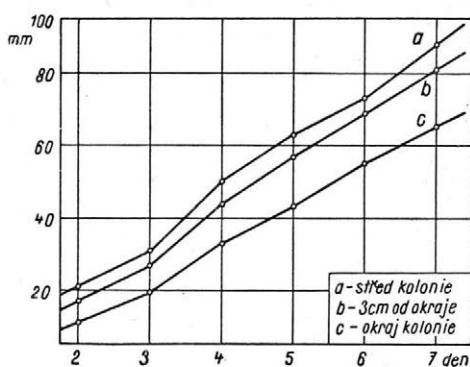
Kultivace

Helminthosporium sativum se dá velmi dobře pěstovat na běžných kultivačních médiích. V našich pokusech houba nejlépe rostla na bramboro-glukózovém agaru. Na této živné půdě se vyznačuje houba poměrně rychlým růstem. Vytváří zpočátku bílé mycelium, které se později ve středu kultury zbarvuje šedě až černě. Fruktifikace byla při laboratorní teplotě zjištěna třetí až čtvrtý den po naočkování. Růst kolonie je pravidelně kruhovitý, sektoriální saltace se objevily během kultivačních pokusů jen ojediněle. Starší kultury mají tmavošedou až černou barvu. Ke kultivaci se hodí též pšeničný agar. Růst na asparagino-glycerinovém agaru byl velmi slabý.

Z tekutých živných roztoků byla rychlost růstu sledována v Czappkově roztoku s různým obsahem glukózy (1 %, 5 %, 10 %, 20 %) a v Knoppově roztoku s 1 % glukózy. Nejintenzivnější růst vykazovala houba v Czappkově roztoku s 1 % a 5 % glukózy. Slabý růst v Czappkově roztoku s vyšším obsahem glukózy (10 %, 20 %) lze vysvětlit jeho hypertonií.



Graf 1.



Graf 2.

Vliv teploty na růst mycelia je patrný z grafu č. 1. Při teplotě 10°C se vyvíjelo mycelium velmi slabě, bylo řídké, síťovitě větvené. Fruktifikace byla pozorována až sedmý den po naočkování. Vzdušné mycelium se vyvíjelo slabě. Růst

mycelia při teplotě 22°–30° C byl nejintenzivnější. Fruktifikace byla v obou případech zjištěna čtvrtý den po naočkování. Při teplotě 35° C byl růst znatelně pomalejší. Z uvedeného je patrné, že tepelné optimum leží mezi 22°–30° C.

Klíčivost konidií byla sledována ve visutých kapkách v Czappkově roztoku, v Knoppově roztoku s 1 % glukózy a ve sterilní vodě. Konidie houby byly do kapek přeneseny pomocí tenké skleněné jehly. Visuté kapky byly uloženy na skleněné epruvety do P. m. o průměru 18 cm a umístěny do termostatu (22° C) a do chladničky (10° C). Ojedinelé klíčení konidií bylo pozorováno již za 90 minut po založení visuté kapky. Po dvou hodinách klíčilo již asi 50 % konidií. Při teplotě 10° C byl začátek klíčení zjištěn až za 48 hodin. Rychlost růstu v živných roztocích byla téměř stejná, ve sterilní vodě však byla zvláště v pozdějších fázích znatelně pomalejší. Kromě teploty a živného prostředí byla rychlost růstu závislá na tom, zda konidie klíčily z jedné nebo z obou polárních buněk (viz tab. I).

I.

Konidie klíící z 1 buňky	Konidie klíící ze 2 buněk
1 19 μ	26 μ
2 51	82
3 133	191
4 234	275
Průměrná šířka mycelia 3,9 μ	Průměrná šířka mycelia 5,1 μ

II.

Relativní vlhkost	Procento vyklíče- ných konidií
100	93
97	78
95	76
93	57
86,5	41
80	21
77,7	14
67,4	5
55,8	1

K doplnění fyziologických pokusů byla sledována růstová potence v kolonii, která by mohla mít význam při infekčních pokusech. Jako kultivačního media bylo použito bramboro-glukózového agaru. Očkování bylo provedeno konidiemi houby z kultury staré 25 dní, které byly odebírány pomocí tenké skleněné jehly: a) ze středu kolonie, b) 3 cm od okraje a c) z okraje kolonie. Pokus byl založen v šesti opakováních. Výsledky měření, které bylo prováděno každý den, jsou patrné z grafu č. 2.

Nejvyšší životnost měly konidie, které byly odebrány ze středu kolonie, nejníž životnost vykazovaly konidie z okraje.

Při vysvětlení této skutečnosti se přidržuji výkladu Z a c h o v a (1948), že totiž po počátečním rychlém růstu se snaží houba vytvořit rezervy ve vnitřní stavbě kolonie.

V dalším pokuse byl sledován vliv relativní vzdušné vlhkosti na klíčení konidií a byla zjišťována hranice, při které klíčí aspoň 50 % konidií. Na skleněné tabulky o rozměrech 100×100×1 mm byly pomocí štětečku nanášeny konidie houby z kultury, staré 30 dní. Žádaná relativní vlhkost byla získána hydrostatickými solemi, které byly dány do Petriho misek a přiklopeny tabulkami skla s konidiemi na vnitřní straně. Aby byla dosažena pokud možno přesná r. v., byly okraje P. m. natřeny vrstvou vazelíny. Klíčení konidií bylo sledováno při teplotě 20° C. Výhodou této metody bylo poměrně snadné hodnocení: pod mikroskop byla dána celá P. m., takže i vlhkostní poměry během hodnocení zůstaly zachovány. Výsledky jsou uvedeny v tabulce II.

Konečné vyhodnocení bylo provedeno za 48 hodin po založení pokusu.

Nároky houby na alkalitu či aciditu prostředí byly sledovány na bramboroglukózovém agaru s různě upraveným *pH*. K úpravě žádaného *pH* bylo použito HNO_3 a KOH . Bramborový agar s *pH* 2, *pH* 3 a *pH* 4 netuhl a byl proto z pokusu vyloučen. Po naočkování byly P. misky umístěny do termostatu při teplotě 22° C. Průměr kolonií byl měřen vždy každý den. Výsledky jsou uvedeny v tabulce III.

III.

Den	<i>pH</i> 4	<i>pH</i> 5	<i>pH</i> 6	<i>pH</i> 7	<i>pH</i> 8	<i>pH</i> 10
1.	—	2 mm	3	3,5	3	3
2.	—	16	27	22	19	15
3.	—	21	39	34	32	22
4.	—	25	52	45	44	29
5.	—	29	66	58	57	36
6.	—	33	93	85	79	68

Nejlepší růst vykazuje houba při *pH* 6—*pH* 7 (D o s d a l l, 1923, uvádí *pH* 6,34—7,29).

Kromě nároků houby na *pH* živného prostředí byl v Czapkově roztoku sledován vliv kultivace houby na změnu *pH*. Stanovení *pH* bylo provedeno elektrometricky, v desetidenních intervalech. Výsledky měření viz tab. IV.

IV.

Den měření	<i>pH</i>
před očkovaním	4,64
za 10 dnů	6,92
za 20 dnů	7,15
za 30 dnů	7,56
za 40 dnů	7,60

Z uvedeného je patrné, že houba upravuje reakci kyselého živného prostředí směrem k alkalitě.

Infekční pokusy

K infekčním pokusům bylo použito pouze konidiového stadia houby, neboť vřeckaté stadium se mně nepodařilo zjistit. Účelem těchto pokusů bylo zjištění, jak dalece se podílí na vzniku onemocnění infekce obilek, mladých rostlin a půdy.

Infekce obilek. K infekci bylo použito suspenze konidií o hustotě 250 000/1 ccm, v níž byly obilky ječmene (Hanácký Kargyn) a pšenice (Dobrovická) ponechány 12 a 24 hodin. Kontrolní obilky byly máčeny po stejnou dobu v destilované vodě. Po uplynutí stanovené doby byly obilky zasety do vegetačních nádob a umístěny ve skleníku.

Vzcházení infikovaných obilek u ječmene bylo zpožděno v průměru o 2 dny proti kontrole, u pšenice v průměru o 3 dny. U obilek, které byly ponechány v suspenzi konidií 24 hodin, bylo vzcházení nejen zpožděno, ale byla snížena i klíčivost, a to na 70 % u ječmene a 67 % u pšenice. Na listových čepelích se infekce projevila jen v jednom případě, a to u ječmene. Kořínky z infikovaných obilek byly zkroucené, zhnědlé a jejich počet byl zredukován (u ječmene v průměru na pět, u pšenice v průměru na čtyři — viz foto č. 2 a 3). Vliv umělé infekce obilek na vývoj zárodečných kořínků byl sledován i na klíčidle. Z infikovaných obilek vyrůstaly zárodečné kořínky zhnědlé, zkroucené, se slabě vyvinutým vlášením.

Počet kořínků byl zredukován. Rozdíly v průměrné délce rostlin, délce a počtu zárodečných kořínků jsou patrné v tabulce V.

V.

Druh	Rostliny kontrolní			Rostliny infikované		
	délka v mm		počet kořenů	délka v mm		počet kořenů
	rostliny	kořenů		rostliny	kořenů	
Ječmen	103	34	7	85	8	5
Pšenice	75	31	5	39	5	4

Vyhodnocení bylo provedeno za 7 dní po založení pokusu. Vliv různé hustoty suspenze konidií na délku a tvorbu zárodečných kořínků ukazuje tabulka VI.

VI.

Ukazatel	Voda	150 000	300 000	600 000
Výška rostlin	87 mm	67 mm	56 mm	43 mm
Poč. zárodeč. kořenů	7	4,8	4,6	4,3
Délka zárodeč. kořenů	45	30	28	18

Infekce na listech se objevila jen ojediněle, a to až při použití suspenze o hustotě 600 000/1 ccm.

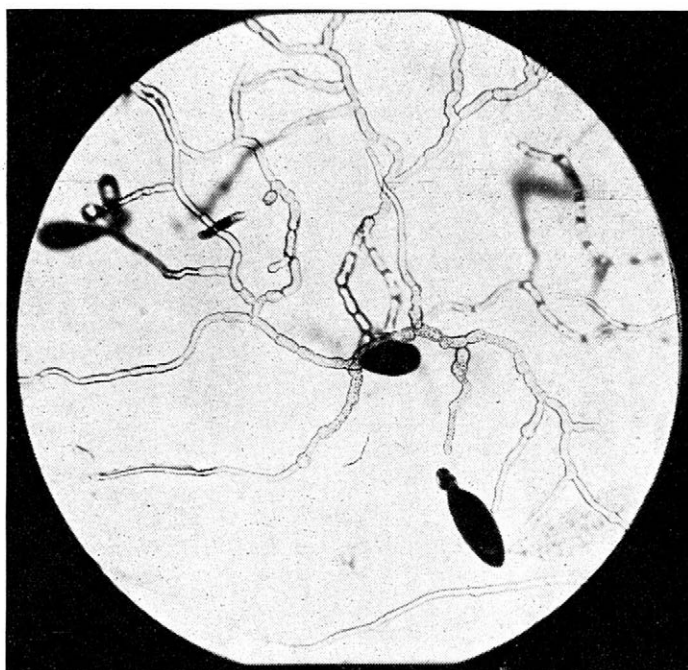
Infekce mladých rostlin. Patogenita izolovaného kmene *H. sativum* P. K. a B. byla zkoušena nejen na obilovinách (ječmen, pšenice, žito, kukuřice), ale i na některých druzích pícních trav (jílek anglický *Lolium perenne*, lipnice hajní — *Poa nemorum*, bojínek luční — *Phleum pratense*, kostřava červená — *Festuca rubra*, lipnice úrodná — *Poa fertilis*, ovsík žlutavý — *Trisetum flavescens*). Všechny infekční pokusy byly založeny ve skleníku suspenzí konidií o hustotě 600 000/1 ccm. v různých variantách. Umělé infekce se zdařily u všech uvedených druhů s výjimkou ovsíku žlutavého, ale jen u těch rostlin, které byly po nainfikování ponechány 48 hodin pod skleněnými zvonky. Tím byla potvrzena i značná náročnost houby na relativní vzdušnou vlhkost (ve skleníku se pohybovala od 53–58 %).

Nejrychlejší byl průběh infekce u ječmene a pšenice, kde již za 24 hodin bylo možno pozorovat na listech jakoby promáčené, proti světlu světleji zbarvené nepravidelné skvrny, které se později zbarvily hnědě až tmavě hnědě. Skvrny byly zpočátku drobné, tečkovité až mírně protáhlé, s nezřetelným okrajem (viz foto č. 4), později splyvaly a měnily se v dlouhé, tmavohnědé. V poslední fázi listy žloutly, kroutily se a odumíraly.

U žita byl průběh infekce zřetelně pomalejší a slabší, příznaky byly obdobné jako u ječmene s tím rozdílem, že uvnitř skvrn tmavě hnědých se vytvořil světlejší dvůrek. Skvrny zůstávaly protáhlé tečkovité. Listové pletivo se v okolí skvrn zbarvilo růžově.

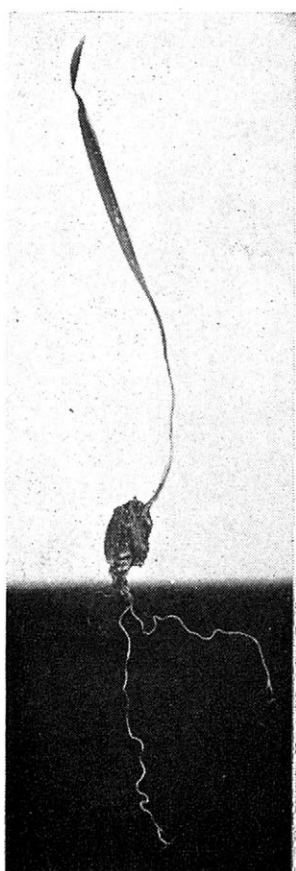
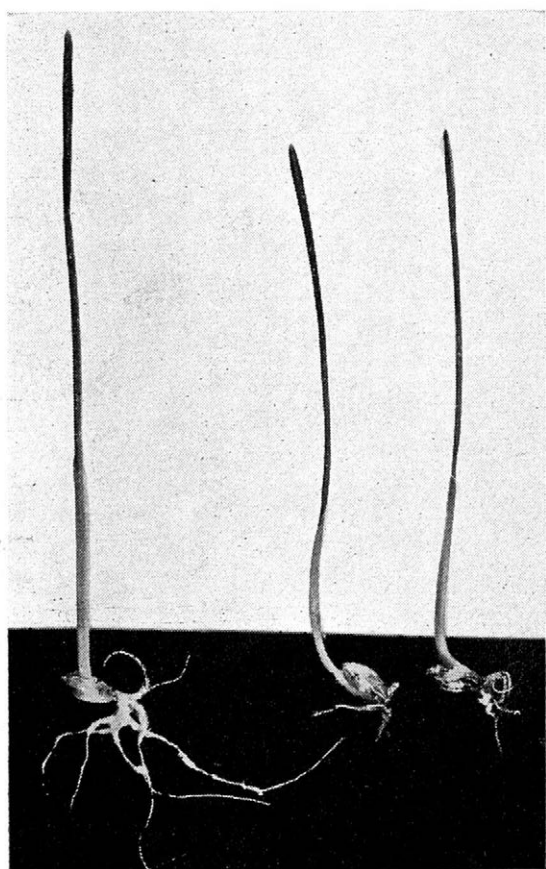
U kukuřice se rovněž nejdříve objevily jakoby promáčené skvrny, které se šířily podél nervů, byly nepravidelně protáhlé, světle, později rezavě hnědé.

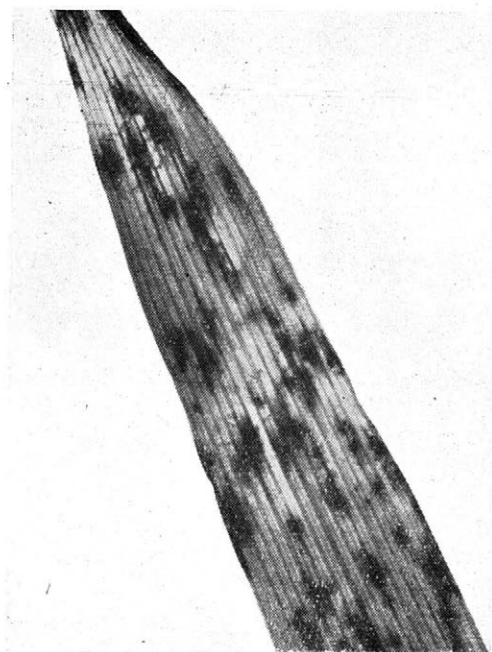
U trav se objevila infekce nejdříve na jílku anglickém, bojínku lučním a kostřavě. Celkově se však proti obilovinám projevila mnohem slaběji. Sympto-



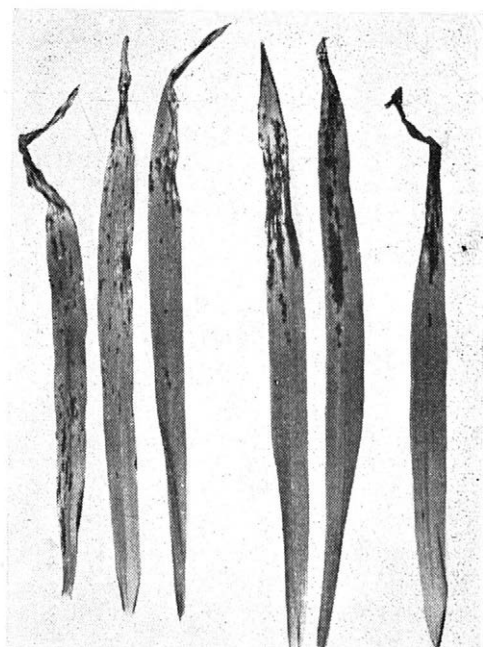
1. Klíčící konidie houby *Helminthosporium sativum*. Konidie klíčí jen z jedné polární buňky

2. a 3. Rostlinky z infikovaného osiva mají zárodečné kořínky zhnědlé, počet zredukován, u pšenice (č. 3)) zkroucené

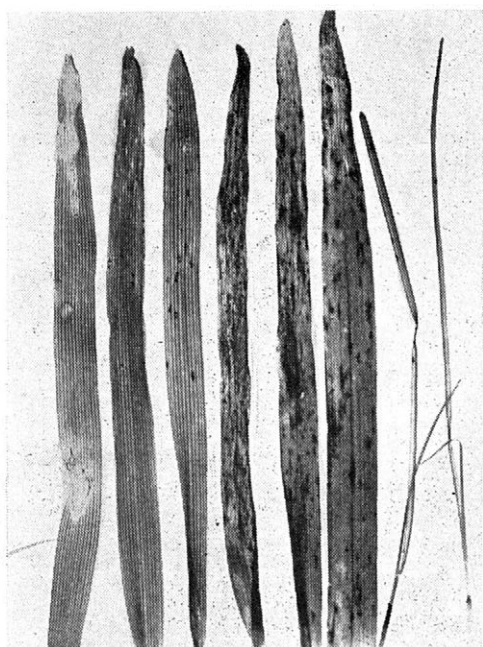




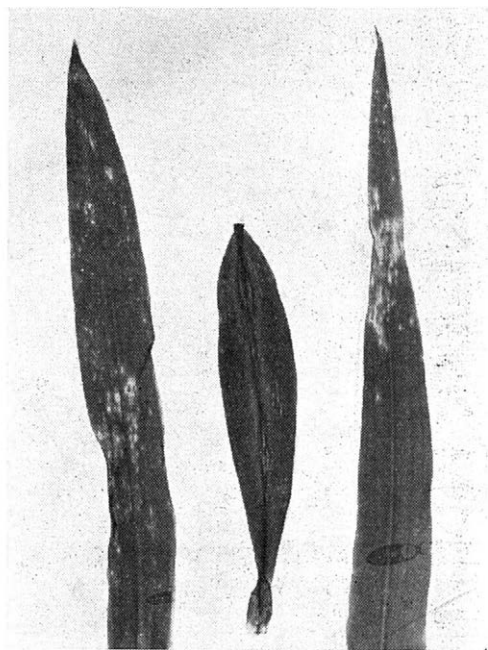
4. Detail ječmenného listu odrůdy Hanácký Kargyn, infikovaného houbou *Helminthosporium sativum*



5. Infikované listy ječmene (Hanácký Kargyn)



6. Infikované listy žita, pšenice a bojínku



7. Infikované listy kukuřice
(Všechny fotografie Kocman)

matika byla ve všech případech shodná — tečkovité, mírně protáhlé, drobné skvrny tmavě hnědé až černé. Důkaz infekce reizolací nebyl proveden. Infekce na ječmeni, pšenici, žitě, kukuřici a bojínku viz foto č. 5, 6, 7.

Koloidovými otisky, které byly odebírány z infikovaných listů po 12 a 24 hodinách bylo zjištěno, že mycelium prorůstá do listového pletiva hlavně průduchy. Tím lze vysvětlit i skutečnost, že nebyly pozorovány podstatné rozdíly mezi průběhem infekce u rostlin, jejichž listy byly infikovány buď ze spodní, nebo ze svrchní strany, neboť počet průduchů je u obilovin na obou stranách přibližně stejný.

Přenos infekce půdou. Skleníkovými pokusy bylo dokázáno, že půda, infikovaná velmi hustou suspenzí konidií a zalévaná po dobu jednoho týdne Czapkovým roztokem s 1 % glukózy, nejenže brzdí rostlinky ve vzházení, — v průměru o 3—4 dny, ale do značné míry porušuje i klíčivost. Klíčivost ječmene byla při půdní infekci snížena proti kontrole až o 50 %.

V malém polním pokusu v Písku bylo vyseto uměle infikované osivo 8 odrůd ozimých ječmenů; Stupický šestiřadý, B 50n/šl., Peragis XII, Mahnsdorský, Polský I, Polský II, Šumavský n/šl., Pavlovický. K infekci bylo použito suspenze konidií o hustotě 600 000/1 ccm. Po důkladném promíchání a probublání bylo odpipetováno vždy 50 ccm suspenze do Erlenmeyerových baněk se širokým hrdlem, do kterých bylo předem odpipetováno stejné množství sterilní vody. Do takto připravených baněk bylo vsypáno vždy 350 zrn od každé odrůdy. Stejný počet zrn byl od každé odrůdy vsypán do E. b. se 100 ccm destilované vody, kterých bylo použito k osázení na kontrolní parcely. Po 48 hodinách byla zrna ze suspenze a destilované vody vyjmuta a po částečném oschnutí vyseta.

Již na podzim se projevila infekce pozdějším vzházením proti kontrole a téměř u všech odrůd i snížením procenta klíčivosti (viz tabulku VII).

VII.

Ukazatel	Procento snížení klíčivosti	Zpoždění vzházení
Stupický šestiřadý	—	1
Mahnsdorský	24	2
Polský I	50	2
Polský II	42	2
Peragis XII	45	2
Šumavský n/šl.	32	2
Pavlovický	77	3

Během zimního a předjarního období došlo na pokusných parcelkách k značnému vymrzání, takže výsledky konečného hodnocení, při kterém byl hodnocen počet odnoží, počet klasů, váha klasů a výška rostlin, byly značně zkresleny.

Ochranná opatření

Jelikož onemocnění rostlin houbou *Helminthosporium sativum* je způsobeno jednak primární infekcí mladé rostlinky následkem použití infikovaného semene a jednak sekundární infekcí rostoucích rostlin, rozvíjela se ochrana dvěma směry.

A. Použitím úplně zdravého osiva. A t a n a s o f f a J o h n s o n (1920) doporučují moření osiva horkou vodou.

B. Správným střídáním plodin, neboť houba se šíří půdou a rostlinnými zbytky (doporučuje se nehnout chlévskou mrvou ze slámy napadené *Helmintosporium* — C u m a k o v, 1950) a vyšlechtěním rezistentních odrůd. V tomto směru vykazují práce Hayse a Stackmana (1920), Griffeho (1925) a Arnyho (1951) určité pozitivní výsledky. Arny ve své práci uvádí již některé rezistentní odrůdy vůči houbě *Helmintosporium sativum*.

Moření osiva. V laboratorních pokusech byla přezkoušena účinnost některých tuzemských i zahraničních mořidel na konidie houby a uměle infikované osivo. Tyto výsledky je nutno brát jako orientační, neboť přirozeně infikované osivo má mycelium houby v latentním stavu ve slupce a v pluše i mezi oběma a k infekci dochází již při začátku klíčení. Při umělé infekci jsou tyto poměry poněkud odlišné.

Vliv mořidel na klíčovost konidie houby byl zkoušen kapkovou metodou modifikovanou ÚFL v Brně.

Výsledky jsou uvedeny v tabulce VIII.

VIII.

Mořidlo	Koncentrace	Účinnost v procentech	Účinná látka
Agrostan	0,5	100	kresolmerkurikyanid
Agrostan	1,0	100	sodný
Dektosal	0,15	98,1	kresolmerkurikyan
Dektosal	0,50	100	natrium
Ceresan	0,5	92	acetát-fenylmerkuri
Ceresan	1,0	98	
Germisan	0,25	97,1	fenylmerkuri-
Germisan	0,50	98,2	pyrokatechin
Hernostan	0,25	96	organická sloučenina
Hernostan	0,50	97,2	rtuti

Účinnost mořidel na infikovaném osivu byla zkoušena na ječmeni. Obilky byly ponořeny po dobu 24 hodin v suspenzi konidií (600 000/1 ccm), osušeny a ponořeny na dobu 10 minut do roztoků zkoušených mořidel; poté byly vysázeny pinzetou na klíčidlo. Kontrolní obilky byly máčeny 10 minut v destilované vodě. Vývoj rostlinek, jejichž zrna byla namořena, byl normální a zhnědnutí kořínků, které je po infekci charakteristické, se objevilo jen ojediněle u rostlinek, jejichž zrna byla mořena 0,5 % roztokem Ceresanu a 0,25 % Hernostanu. Kontrolní rostlinky měly kořínky úplně zhnědlé, zkroucené. V laboratorních a skleníkových pokusech byla zkoušena též účinnost některých fungicidních přípravků. Pro laboratorní pokusy byla zvolena obdobná metodika jako u mořidel. Byly zkoušeny tyto přípravky: Sandoz, Kuprikol, měďnaté vápno, Sulikol, Polybaryt, Sulfomag a Ziram. Jejich účinnost v procentu na klíčení konidií ukazuje tabulka IX.

IX.

Sandoz 0,4 %	100	Ziram 0,3 %	100
Kuprikol 1,0 %	86,6	Sulfomag 1 %	23,6
Polybaryt 1 %	68,5	Měďnaté vápno 1 %	99,6
Sulikol 0,25 %	18,6	Sulikol 0,50 %	40,8

Z uvedené tabulky je zřejmé, že mědnaté přípravky vykazují daleko lepší účinnost než sirnaté, které jsou téměř neúčinné. Laboratorní pokusy se sirnatými přípravky byly doplněny skleníkovým pokusem, který slabou účinnost sirnatých přípravků potvrdil.

Souhrn

V práci jsou uvedeny některé morfologické a fyziologické vlastnosti houby *Helminthosporium sativum* Pamm, King a Bakke, která byla zjištěna na území našeho státu a které bude nutno v našich poměrech věnovat zvýšenou pozornost. Řadou pokusů byly potvrzeny literární údaje o vlivu teploty, vlhkosti, pH a živného prostředí na rychlost růstu a velikost konidií. Ve skleníkových pokusech se podařilo vyvolat umělou infekci na ječmeni, žitě, pšenici, kukuřici, bojínku, kostřavě, lipnici luční a lipnici úrodné. Pozitivní výsledky měla i infekce půdy a obilek. Z ochranných opatření bylo zkoušeno moření a některé fungicidní přípravky. Z mořidel se nejlépe osvědčila mořidla rtuťnatá (Agronal, Agrostan), z fungicidních přípravků nejlépe fungicidy mědnaté.

Literatura

1. Arny D. C.: Inheritance of resistance to spot blotsch (*Helminthosporium sativum*) in barley seedlings. *Phytopathology* 41, p. 671, 1951. — 2. Atanasoff and Johnson A. G.: Treatment of cereal seeds by dry heat. In *Jour. Agr. Research*, v. 18, p. 379-390, pl. 48-49, literature cited, p. 388-390, 1920. — 3. Bassi E.: Una forte infezione di "*Helminthosporium*" o marciume dei nodi del grano. In *Italia Agr.*, ann. 58, p. 298-301, 2 fig. — 4. Baudyš E.: *Hospodářská fytopathologie*, díl I., 1929. — 5. Benada J.: *Zemědělská fytopathologie* II., 1958. — 6. Butler and S. G. Jones: *Plant pathology*. — 7. Dickson: *Diseases of Field Crops* — New York a. London 1949. — 8. Drechsler Ch.: Some graminicolous species of *Helminthosporium*, *Jour. Agr. Research*, 1923. — 9. Gaumann: *Pflanzliche Infektionslehre*. — 10. Gorlenko: Bolezni pšenice, selch. 1951. — 11. Güssow H. T.: Report of the Dominion botanist. In *Rpt. Canada Dept. Agr. Cent. Exp. Farm*, (1911), 12, p. 191-215, 4 fig. — 12. Ito S., Kuribayashi K.: The ascigerous forms of some graminicolous *Helm.* in Japan. (Dickson). — 13. Johnson E. C.: A study of some imperfect fungi isolated from wheat, oat and barley plants. In *Jour. Agr. Res.*, v. I., p. 475-490, 1914. — 14. Lindfors T.: *Mycologische Notizen*, in *Swensk, Bot. Tidskr.* Bd 12, p. 221-227, 1918. — 15. Puchner H.: Untersuchungen an schwarzspitzigen Gersten. In *Jour. agr. (London)* v. 12, 1897. — 16. Ravn, F. Köplin: Nogle *Helminthosporium*-arter og de af dem fremkaldte sygdomme hos byg og Havre. In *Bot. Tidsskr.*, Bd. 23, p. 101, 1900. — 17. Reader J. M.: A *Helminthosporium* foot rot of wheat in Idaho (Abstract). In *Phytopathology* v. 12, 447, 1922. — 18. Saccardo P. A.: *Sylloge fungorum*... 22 v. Patavii. 1882-1913. — 19. Smolák J.: Některá ochranná opatření proti pruhovitosti ječmene. *Věstník ČAZ*, 1926. — 20. Sorokin N.: Über einige Krankheiten der Kulturpflanzen im Süd-Ussurische Gebiet. In *Trudy Obsch. Estet Imp. Kazan Univ.* v. 22., no 3, 32 p. I col. pl. In Russian. 1890. — 21. Sorauer P.: *Handbuch der Pflanzenkrankheiten*. III. Band, str. 665-680. Berlin 1932. — 2. Zöbl A.: Die Farbe der Braugerste. In *Österr. Zeitsch. Bierbrau- u. Malzfabrik*. 1892.

К вопросу познания некоторых морфологических и физиологических свойств гриба *Helminthosporium sativum* P. K. B.

В работе приведены некоторые морфологические и физиологические свойства гриба *Helminthosporium sativum* Pamm, King и Bakke, который был найден на территории нашего государства и которому необходимо уделять повышенное внимание в наших условиях. Рядом опытов были подтверждены литературные данные

о влиянии температуры, влажности, pH и питательной среды на скорость роста и размер конидий. В тепличных опытах удалось вызвать искусственную инфекцию ячменя, ржи, пшеницы, кукурузы, тимopheевки, овсяницы, мятлика лугового и мятлика болотного. Позитивные результаты имела и инфекция почвы и зерновок. Из защитных мероприятий испытывалось протравливание и некоторые фунгисидные препараты. Из протравителей лучше всего себя проявили ртутные протравители (Агронал, Агостан), из фунгисидных препаратов — медные фунгисиды.

Beitrag zur Erkenntnis einiger morphologischer und physiologischer Eigenschaften des Pilzes *Helminthosporium Sativum* P. K. und B.

In der vorliegenden Arbeit werden einige morphologische und physiologische Eigenschaften des Pilzes *Helminthosporium sativum* Pamm, King und Bakke beschrieben, die auf dem Gebiet unseres Staates ermittelt wurden und denen in unseren Verhältnissen in Zukunft eine erhöhte Aufmerksamkeit gewidmet werden muß. Eine Reihe von Versuchen bestätigte die Angaben der Literatur über den Einfluß von Temperatur, Feuchtigkeit, pH-Zahl und Nährmedium auf die Schnelligkeit des Wachstums und die Größe der Konidien. In Glashausversuchen gelang es, eine künstliche Infektion bei Gerste, Weizen, Roggen, Mais, Lieschgras, Wiesenschwingel, Wiesenrispe und Sumpfrispe hervorzurufen. Zu positiven Ergebnissen führte auch die Infektion des Bodens und der Getreidepflanze. Was Pflanzenschutzmaßnahmen angeht, wurden Beizung und einige fungizide Mittel geprüft. Von den Beizmitteln bewährten sich am besten quecksilberhaltige (Agronal, Agostan), von den fungiziden Stoffen die kupferhaltigen Präparate.

Skvrnitá nekróza ječmene

Пятнистый некроз ячменя

Fleckennekrose der Gerste

Inž. dr. Jaroslav BENADA
Vysoká škola zemědělská v Brně

Došlo dne 23. II. 1959

Ječmen je obilnina, která velmi citelně reaguje na poruchy výživy i na napadení parazity. V poslední době jsem pozoroval na jarním ječmeni zvláštní chorobu, která velmi připomínala onemocnění ječmene parazitem *Helminthosporium sativum*. Choroba se objevovala na rekultivovaných pozemcích v těsném sousedství města Brna, kam byly dříve vozeny odpadky a popel, ale také jako malá ohniska uprostřed zdravého porostu, když byl na takový pozemek popel vysypán spíše náhodně. Dosti často bylo možno najít chorobu na okrajích pozemků vedle chodníků, když chodníky byly během zimy sypány popelem a část popela se dostala i na pozemek. Sora uer popsal podobnou chorobu u ječmene, který byl vyset na pozemky s těžkou půdou a kam dopadalo velké množství létavého popílku (Graebner, 1921).

Dáme-li listy ohořelé skvrnitou nekrózou do vlhké komůrky, nevyrůstají na skvrnách zpočátku žádné konidiofory ani konidie, ale později se na skvrnách objeví druhotně čern (Cladosporium sp., Alternaria sp. a jiné houby). Sora uer pozoroval, že skvrny byly často druhotně porůstány houbou Hormodendron sp. a nazval proto onemocnění hormodendronovou chorobou (Graebner, 1921).

Upozorňuji na tuto fyziologickou nekrózu ječmene, protože se může ve větším měřítku objevit na rekultivovaných pozemcích kolem měst a jiných průmyslových středisek, kde vzniká jako odpad větší množství popela.

Popis choroby

Choroba je nejnápadnější v době metání ječmene. Při silném onemocnění jsou celé čepele pokryté tmavě hnědými čárkami nebo tečkami, jež se střídají se světlejšími skvrnkami (obr. 1). List od špičky zasychá, ale tmavé skvrny jsou stále patrné na slámově žlutém podkladu. Tam, kde se skvrny objeví ještě na zeleném pletivu a jen ojediněle, bývají lemovány žlutým dvůrkem. Někdy se na skvrnách objevuje hnědá kresba podobně jako u hnědé skvrnitosti ječmene, vyvolané parazitem *Helminthosporium teres* Sacc., ale skvrny bývají mnohem menší. Skvrnitost přechází i na pochvy listové, a to především na jejich okraje. Skvrnitosti k bázi pochvy ubývá. U rostlin ohořelých v mírném stupni báze čepelí zůstávají bez příznaků onemocnění a jsou zelené. Zdravá část čepele vytváří výběžek podél hlav-

ního nervu směrem ke špičce listu, kdežto na okrajích čepele se objevují skvrny mnohem níže. U spodnějších listů bývají větší části čepele zdravé, směrem ke klasu jsou listy pokryty skvrnami stále ve větší míře (obr. 1). Špičky listů zasychají a později zasychají celé listy. Výnos zrna i slámy je silně snižován.

Choroba byla pozorována kromě ječmene dvouřadého i na ječmenu myším (*Hordeum murinum* L.), pokud rostl na místech, kam byl vysypán popel, například na předměstích nebo u železničních naspů (obr. 2). Na ostatních obilninách se choroba neobjevila. Například na pozemku, kde byla vyseta směska ječmene a ovsa, ohoření se objevilo jen na ječmeni.

Diferenční diagnóza

Skvrnitou nekrózu ječmene by bylo možno zaměnit se symptomy některých parazitních chorob, především *Helminthosporium sativum* Pam., King et Bakke, dále *Helminthosporium teres* Sacc., *Helminthosporium gramineum* Rab. i *Erysiphe graminis* DC.

Ochoření skvrnitou nekrózou se nejvíce podobá ohoření vyvolanému sekundární infekcí *Helminthosporium sativum*. Tento parazit vyvolává především na spodní části čepelí skvrny, okrouhlé až protáhlé, s ostře vyznačeným okrajem. Skvrny jsou tmavě hnědé na zlatožlutém podkladě. Skvrny mohou pokrýt celou čepel listovou a navzájem splývat. Na pochvách se vyskytují řidčeji. Starší skvrny jsou pokryty olivovým povlakem konidioforů a konidií. Těžce ohořelé listy usychají a rostliny předčasně dozrávají. Parazit fruktifikuje dále i na odumřelých pletivech. Skvrny se mohou objevit i na květních listenech a obilkách. Pokud byly infikovány již obilky (primární infekce), rostliny zakrňují a hojně odnožují, případně jejich klíček odumře ještě v půdě. Hlavním rozlišovacím znakem ohoření *Helminthosporium sativum* od skvrnité nekrózy jsou povlaky konidioforů a menší počet skvrn na listech (obr. 3).

Skvrnitá nekróza by mohla být zaměněna i s ohořením, které způsobuje *Helminthosporium teres* (obr. 4). Při tomto ohoření na čepelích listových vznikají hnědé skvrny se síťovitou kresbou, která je tvořena nepravidelně rozděleným tmavým pigmentem. Pigment je soustředěn v úzkých čárkách, z nichž některé jsou orientovány podélně, jiné příčně nebo šikmo. Části pletiva, které sousedí se skvrnami, jsou nažloutlé. Později zežloutne celý list a schne od vrcholku k bázi. Na skvrnách se tvoří konidiofory a konidie jen nepatrně. Malé čárkovité skvrny se objevují také na květních listenech. Ochoření parazitem *Helminthosporium teres* lze rozlišit od skvrnité nekrózy podle větších skvrn a podle síťovité kresby na skvrnách.

Dále by bylo možno skvrnitou nekrózu zaměnit s počátečními stadii ohoření ječmene *Helminthosporium gramineum* (obr. 5). Na čepelích se objevují drobné žluté až hnědé skvrnky, které ale brzy splývají v pruhy. Pruhy později zešednou, pletivo se stává křehkým, list se třepí a na listech se vytvářejí hojně konidiofory a konidie. U napadených rostlin kromě skvrn a pruhů na listech lze pozorovat různé stupně zakrsávání. Často pozorujeme, že klasy nevymetají nebo zůstávají napolo uzavřeny v pochvě.

Při ohoření ječmene padlím travním (*Erysiphe graminis*) rovněž vznikají na čepelích u některých soret nejprve hnědé skvrny, často na žlutém podkladu (obr. 6). Většinou však na skvrnách se tvoří šedý povlak mycelia a konidií.

Jak je vidět z uvedeného přehledu, příčin vzniku hnědých skvrn na listech ječmene může být několik a snadno by mohlo dojít k záměně a k omylu při klasifikaci porostů, například při uznávacím řízení. Aby bylo možno o původu choroby

rozhodnout, je třeba především pečlivě prohlédnout stanoviště, kde takové rostliny vyrůstají, zda tam nejsou zbytky popela. Jestliže na pozemku najdeme zbytky uhlí, koksu, případně přímo čerstvý popel, pak příčinou nekrózy je fyziologická porucha, jež může být komplikována i parazitními chorobami.

Část experimentální

Úkolem pokusů bylo zjistit nebo dokázat a) zda uvedená skvrnitá nekróza je vyvolávána působením popela, b) které druhy popela nekrózu působí, c) která složka v popelu nekrózu působí.

Provedení pokusů

ad a) Pokusný materiál: jarní ječmen Triumf; popel z hnědého uhlí Komořany ořech II prosetý sítem; popel z koksu prosetý sítem; rendzina.

Provedení (v pěti opakováních): ve vegetačních nádobách bylo smícháno 5 kg rendziny s 0,5 kg popela z hnědého uhlí nebo s 0,7 kg popela z koksu. U popela z koksu byla zvýšena navážka, poněvadž ve srovnání s popelem z hnědého uhlí byl popel z koksu vlhčí. Kontrola byla vyseta do rendziny bez přídavku popela.

Výsledek pokusu: U rostlin, které vyrostly v půdě, kam byl přimíchán popel z hnědého uhlí, se objevily typické nekrotické skvrny již u prvních listů. Špičky listů žloutly. Skvrny se postupně objevovaly na všech dalších tvořících se listech. Spodní listy postupně zasychaly.

U rostlin, které vyrostly v půdě, kam byl přimíchán popel z koksu, se objevilo typické hnědnutí špiček listů, ale skvrn na ostatních částech čepele bylo málo.

Kontrola byla bez nekrotických skvrn a bez hnědnutí špiček listů.

ad b) Pokusný materiál: jarní ječmen Triumf; prosetý popel z hnědého uhlí Komořany ořech II; prosetý popel z jihomoravského lignitu; pařeništní zemina. Pokus byl proveden v laboratorních podmínkách.

Provedení (ve třech opakováních): ve skleněných kádinkách bylo smícháno 200 g zeminy s 15 g popela. Kontrola byla bez příměsi popela.

Výsledek pokusu. Skvrnitá nekróza se objevila přibližně ve stejném stupni jak na listech rostlin vyrostlých v půdě, kam byl přimíchán popel z hnědého uhlí, tak na listech rostlin, které vyrostly na půdě, kam byl přimíchán popel z lignitu.

ad c) Dosud byly provedeny jen některé předběžné a orientační pokusy. Především mělo být zjištěno, zda nekrózu působí složka popela, rozpustná v destilované vodě.

Materiál: jarní ječmen Triumf; prosetý popel z hnědého uhlí; filtrovaný výluh z popela v destilované vodě; pařeništní zemina.

Provedení (ve třech opakováních): ve skleněných kádinkách bylo smícháno 200 g zeminy a 15 g popela. Ve druhé skupině bylo 200 g zeminy zaléváno výluhem z popela. Třetí skupinu tvořila zemina zalévána destilovanou vodou.

Výsledek pokusu. Skvrnitá nekróza se objevila ve stejném stupni jak na listech rostlin, které vyrostly na půdě, kam byl přimíchán popel, tak na listech rostlin, které vyrostly na půdě zaléváné výluhem popela v destilované vodě.

Toxické působení bóru

Z literatury je známo (viz citovanou literaturu v následující stati), že toxicitou složkou popela by mohl být rozpustný hliník, sloučeniny síry a bóru. Pozornost byla zaměřena především na bór, poněvadž sloučeniny hliníku a síry působí především žloutnutí listů ječmene, kdežto bór vyvolává skvrnitost.

Hornický ústav na naši žádost provedl rozbor různých vzorků popela z hnědého uhlí na obsah bóru spektrografickou metodou. Obsah bóru je uveden v tabulce I.

Druh uhlí	% B . 10 ⁻² v popelu
Šverma	1
Obránci míru	1
Roosevelt	1
Rudý sever	2
Nejedlý	1
Centrum	5
Koh-i-noor	<1
Komořany	1
Hnědé uhlí, jehož popel byl použit k pokusům	5

I. Obsah bóru v hnědouhelných popelech (podle rozboru Hornického ústavu ČSAV)

nách nádob bylo totéž množství kompostové zeminy smícháno postupně s 10 g, 5 g, 2,5 g a 1 g boraxu. Poslední skupina vegetačních nádob, kde byl ječmen vyséván pouze do kompostové zeminy bez jakékoli příměsi, sloužila jako kontrola.

Výsledek pokusu. Kontrola byla provedena asi za 6 týdnů po zasetí. Bylo zjištěno, že dávky 10 a 5 g boraxu snižovaly silně vzházivost ječmene. Většina rostlin, které rostly v nádobách s těmito dávkami, měla zbělené špičky listů nebo celé listy. Při dávce 2,5 g a 1 g se objevily na listech hnědé skvrny a jen některé listy měly chlorotické pruhy a zbělené špičky. Ve vegetačních nádobách s přidavkem popela se na listech objevily již záhy typické hnědé skvrny. Kontrola byla bez skvrn, pouze na některých listech se objevily ojedinělé skvrny, které však byly způsobeny *Helminthosporium*. Skvrny způsobené boraxem ve srovnání se skvrnami vyvolávanými popelem byly poněkud drobnější (viz obr. 7). Rozložení skvrn bylo však v obou případech stejné.

Autor pozoroval skvrnitou nekrózu v provozních podmínkách také u ječmene, který byl vyset jako podkultura v ovocném sadu. Tento sad byl hnojen, jak se dodatečně zjistilo, rok před tím boraxem.

Diskuse

Pokusy bylo dokázáno, že skvrnitá nekróza ječmene není parazitního původu, ale že vzniká toxickým působením popela z uhlí. To se shoduje s nálezem Reesa a Sidraka (1956), kteří použili ječmene jako testovací rostliny pro zjištění vlivu létavého popílku z uhlí na výživu některých rostlin. Ze tří druhů popelů, nejčastěji se vyskytujících, je neškodlivější popel z hnědého uhlí a z lignitu, poněkud méně toxicky působí popel z koksů.

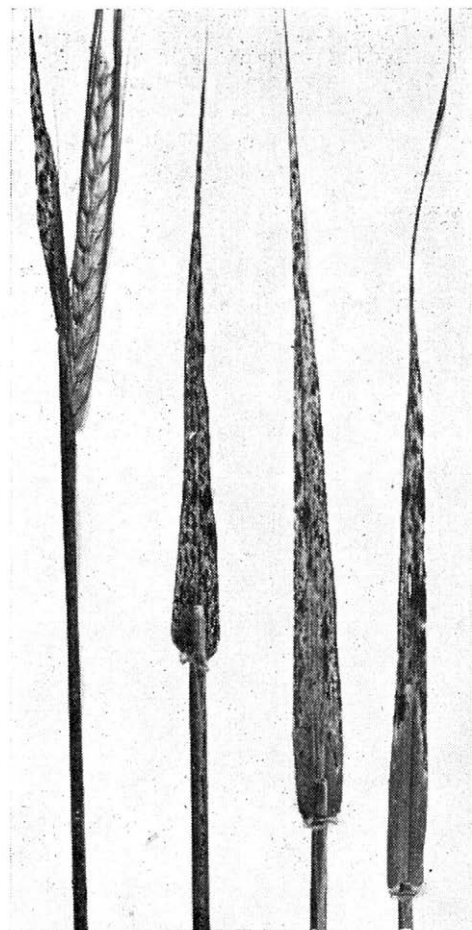
Co je vlastní toxická složka popela, která vyvolává skvrnitou nekrózu ječmene, nebylo dosud jednoznačně dokázáno. Celá řada badatelů sice pozorovala toxické působení popela na nejrůznější rostliny při zkoumání hnojivé hodnoty popela a městských odpadků, ale přesto tento problém zůstává nevyřešen. Existující názory je možno shrnout do tří skupin.

Rees a Sidrak (1956) se domnívají, že toxickou složkou popela z uhlí je rozpustný hliník, jenž je ve značném procentu obsažen v popelu. Toxické půso-

Pro pokusy byly zvoleny dávky bóru v rozmezí kolem toxické dávky, která je přítomna v popelu. V dřívějších pokusech bylo použito 0,5 kg popela na 5 kg zeminy. Jestliže tento popel obsahoval 5.10⁻² % bóru, pak to jest 0,25 gramů B (m. h. 43,2). Při hnojení boraxem (m. h. 427,43) je třeba pro pokus použít dávky asi 2,5 g boraxu.

Materiál: jarní ječmen Triumf; borax; prosetý popel z hnědého uhlí; kompostová zemina.

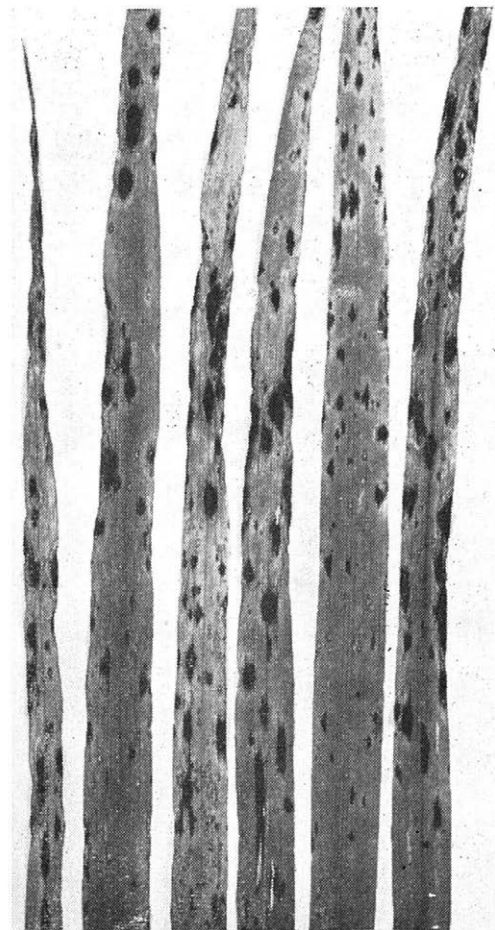
Provedení (ve třech opakováních): ve vegetačních nádobách bylo smícháno asi 5 kg kompostové zeminy s 0,5 kg popela z hnědého uhlí. V dalších skupi-



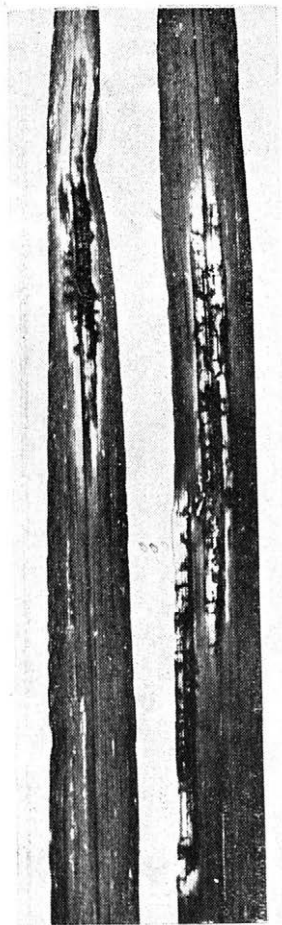
1. Listy ječmene ochrnlé skvrnitou nekrózou. Vpravo list nejspodnější, vlevo nejhořejší



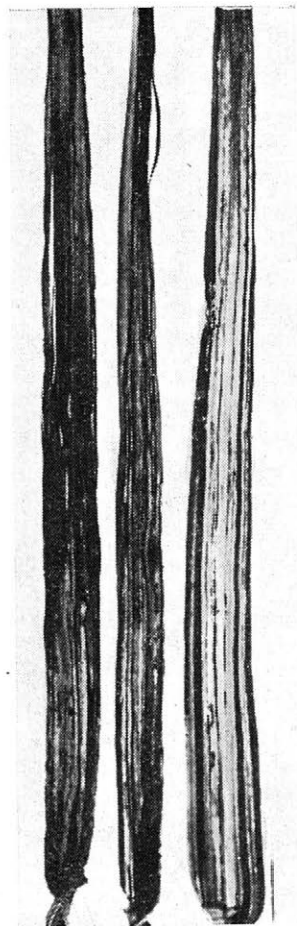
2. Skvrnitá nekróza na listech ječmene myšího (*Hordeum murinum* L.)



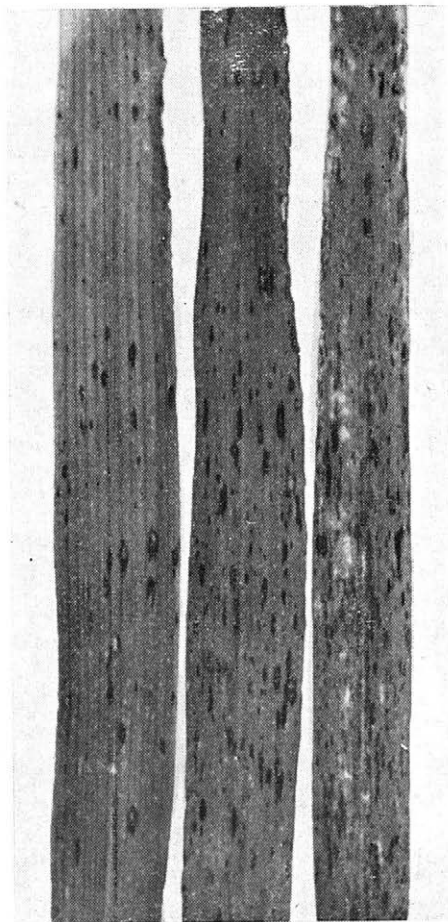
3. Skvrny na listech ječmene vyvolané *Helminthosporium sativum*



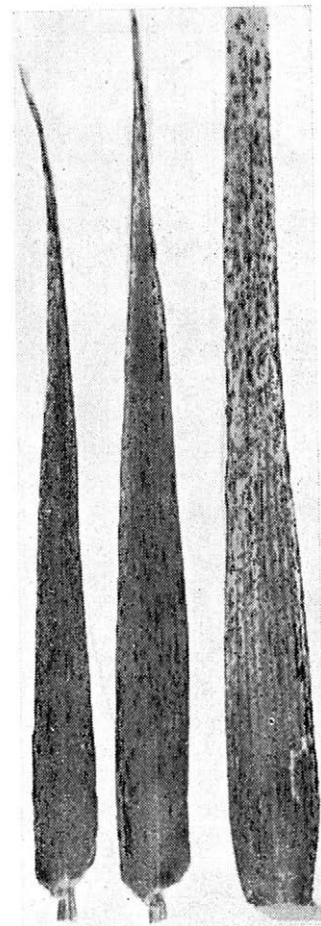
4. Hnědá skvrnitost ječmene způsobená houbou *Helminthosporium teres*



5. Listy ječmene ochořelé pruhovitostí (*Helminthosporium gramineum*)



6. Skvrnitost listů ječmene (*Hordeum vulgare* ssp. *tetrahymena*) Koern. (Dom.) vyvolaná padlím travním (*Erysiphe graminis*)



7. Listy ječmene ochořelé skvrnitou nekrózou vyvolanou dávkou 1 g boraxu na 5 kg zeminy

bení hliníku je vysvětlováno tím, že hliník u některých rostlin narušuje příjem a hospodaření fosforem. Rostliny, které vyrostly v prostředí, kde byl popel, obsahovaly jen $\frac{1}{3}$ fosforu ve srovnání s rostlinami kontrolními. Rees a Sidrak rozdělují rostliny podle jejich citlivosti vůči nadbytku rozpustného hliníku do tří skupin. Do první skupiny patří například lebeda, na niž hliník toxicky nepůsobí. Do druhé skupiny patří například špenát, který je jen zčásti tolerantní vůči hliníku, ale u něhož se příznaky nedostatku fosforu neprojevují. Do třetí skupiny patří ječmen, který je velmi citlivý vůči tomuto kovu a u něhož se příznaky ocnění projevují velmi výrazně.

Bohužel přímý důkaz modelovým pokusem, v němž by hliník u rostlin ječmene vyvolal stejné příznaky jako je vyvolává popel, titi autoři nepodali. Ovšem rozpustný hliník je znám jako silně toxický pro celou řadu rostlin a právě v popelu je jej přítomno značné množství. Tak v popelu z hnědého uhlí Severočeské uhelné pánve je přitomno 14–37 % Al_2O_3 (Landa a kol., 1956) a rovněž do výluhu v destilované vodě přechází značné množství rozpustného hliníku, takže se zdá být pravděpodobné, že domněnka Reese a Sidraka je správná. Naproti tomu je zajímavé, že Scharrer a Schropp (1936), kteří zkoumali vliv aluminia na obilniny, nepopisují u ječmene příznaky skvrnitě nekrózy, ačkoli tyto příznaky jsou velmi nápadné a objevují se již u prvních listů, a autoři by si jich musili jistě všimnout. Zjistili jen, že z obilnin právě ječmen je nejcitlivější na hliník.

Druhá skupina badatelů se domnívá, že toxickou složkou popela je sirovodík, vznikající v půdě ze sirníků, obsažených v popelu [Marx, 1950, Sahm, 1953 a jiní (viz Scharrer a Bürke, 1955)]. Titi autoři sice prováděli modelové pokusy, bohužel nikoli na ječmeni.

Třetí skupina badatelů se domnívá, že příčinou toxicity popela městských odpadků je bór (Pfeil a Tritt, 1943, Sahm, 1953). Sahm uvádí, že berlínské městské odpadky obsahovaly až 0,07 % bóru. Bohužel Sahm modelové pokusy prováděl jen se pšenicí a ovsem. Že by mohl být toxickou složkou bór, podporují pozorování a pokusy Williamse a Vlamise (1957), kteří popsali příznaky ochorení ječmene působením bóru a manganu v Hoaglandově živném roztoku. Popisované symptomy, vznikající působením bóru, se velmi podobají příznakům skvrnitě nekrózy ječmene, která byla popsána na začátku této práce. Mangan působil rovněž skvrnitou nekrózou s tím rozdílem, že skvrny byly mnohem drobnější.

Vlastní pokusy potvrzují, že bór by mohl být toxickou složkou některých popelů z hnědého uhlí. Ovšem není vyloučeno, že v popelu jsou ještě další toxické složky pro ječmen anebo že popel nepříznivě ovlivňuje půdní prostředí, na což ječmen velmi citelně reaguje.

Při provádění pokusů s toxickým vlivem těchto různých látek bylo zjištěno, že citlivost ječmene je ovlivňována také světelnými poměry a délkou dne. Tak v pokusech Williamse a Vlamise (1957) se objevovaly příznaky ochorení během zimních měsíců až při desetinásobných dávkách ve srovnání s dávkami použitými v letních měsících.

Souhrn

Byly popsány příznaky fyziologické choroby ječmene, která vzniká toxickým působením popela z hnědého uhlí. Bylo zjištěno, že stejně toxický je popel z lignitu. Příznaky skvrnitě nekrózy byly odlišeny od podobných příznaků, vyvolávaných parazity *Helminthosporium sativum* Pam., King et Bakke, *Helminthospor-*

rium teres Sacc. (hnědá skvrnitost), *Helminthosporium gramineum* Rab. (pruhovitost ječmene) a padlí (*Erysiphe graminis* DC.). Autor upozorňuje na možnost snadné záměny a omylu při klasifikaci zdravotního stavu porostů například při uznávacím řízení. Byly provedeny některé předběžné práce k zjištění vlastní toxické látky v popelu a byl proveden rozbor literárních údajů, týkajících se této otázky.

Bylo zjištěno, že v popelu jsou přítomna toxická množství bóru a že u ječmene při hnojení boraxem vzniká podobná skvrnitá nekróza jako při hnojení popelem.

Literatura

1. Graebner P.: Handbuch der Pflanzenkrankheiten. I. Bd. Die nichtparasitäre Krankheiten. Berlin 1921, str. 885. — 2. Landa S. a kolektiv: Tabulky a diagramy z obo-ru paliv. Díl I. Praha 1956. — 3. Marx Th.: Zur Kenntnis der Pflanzengifte in städti-schen Abfallstoffen. Z. Pflanzenernähr., Düng. und Bodenkunde 51 (96) : 229-234, 1950. — 4. Pfeil E. und Tritt A.: Über den landwirtschaftlichen und gärtnerischen Nutzwert von Müll. (Z. Pflanzenernähr., Düng. und Bodenkunde) Bodenkunde und Pflanzen-ernährung 29 (74) : 370-382, 1943. — 5. Rees W. J. and Sidrak G. H.: Plant nutrition on Fly-ash. Plant and Soil 7 : 141-159, 1956. Č. 2. — 6. Sahm U.: Modellversuche zu Bor- und Sulfidschäden als Beitrag zur Müllverwertungsfrage. Z. Pflanzenernähr., Düng. und Bodenkunde 60 (105) : 244-249, 1953. — 7. Scharer K. und Bürke R.: Fortschritte der Agrikulturchemie (Pflanzenernährung). Dresden und Leipzig 1955. — 8. Scharer K. und Schropp W.: 3. Über die Wirkung des Aluminium-Ions auf das Pflanzenwachstum. Z. Pflanzenernähr., Düng. und Bodenkunde 45 : 83-95, 1936. — 9. Williams D. E. und Vlamis J.: Manganese toxicity in standard culture solutions. Plant and Soil 8 : 183-193, 1957. Č. 3.

Пятнистый некроз ячменя

В работе описываются признаки физиологической болезни ячменя, которая возникает путем токсического действия золы бурого угля. Установлено, что также токсична зола, полученная из лигнита. Признаки пятнистого некроза отличны от подсбных признаков, вызываемых паразитами *Helminthosporium sativum* Pam., King et Bakke, *Helminthosporium teres* Sacc. (сетчатый гельминтоспориоз ячменя), *Helminthosporium gramineum* Rab. (полосатый гельминтоспориоз ячменя) и мучнистой росой (*Erysiphe graminis* DC.). Автор обращает внимание на возможность легкой замены и ошибки при классификации состояния здоровья посевов, например, при апробации. Были проведены некоторые предварительные работы для установления собственно токсического вещества в золе и был проведен анализ литературных данных, касающихся этого вопроса.

Было установлено, что зола содержит токсическое количество бора и что у ячменя, при удобрении его бораксом, возникает подобный пятнистый некроз, как при удобрении золой.

Fleckennekrose der Gerste

Es wurden die Symptome einer physiologischen Gerstenkrankheit beschrieben, die durch die toxische Wirkung von Braunkohlenasche entsteht. Es wurde festgestellt, daß Asche aus Lignite ebenso toxisch ist. Die Merkmale der Fleckennekrose wurden von ähnlichen Merkmalen unterschieden, die von den Parasiten *Helminthosporium sativum* Pam., King et Bakke, *Helminthosporium teres* Sacc. (Braunfleckigkeit der Gerste), *Helminthosporium gramineum* Rab. (Streifenkrankheit der Gerste) und vom Mehltau (*Erysiphe graminis* DC.) hervorgerufen werden. Der Autor macht auf die große Möglichkeit einer Verwechslung oder eines Irrtums bei der Klassifikation des Gesundheitszustandes der Bestände, z. B. beim Anerkennungsverfahren aufmerksam. Es wurden einige Vorarbeiten zur Ermittlung des eigentlichen toxischen Stoffes in der Asche vorgenommen und eine Analyse der Angaben der einschlägigen Literatur durchgeführt.

Es wurde festgestellt, daß in der Asche toxische Bormengen anwesend sind und daß bei der mit Borax gedüngter Gerste eine ähnliche Fleckennekrose, wie bei der mit Asche gedüngten Gerste, entsteht.

Geneticko-fyziologická studie rezistence pšenice proti sněti prašné

IV. Pokus o „biologické moření“

Генетическо-физиологическое изучение устойчивости пшениц против пыльной
головни

IV. Опыт с «биологическим протравливанием»

Genetisch-physiologische Studie der Resistenz des Weizens gegen Flugbrand

IV. Versuch mit der „biologischen Beizung“

Dr. inž. Jan ROD a RNDr. Karel ŘÍDKÝ

Výzkumný ústav travoplní soustavy ČSAZV, Pohořelice

Došlo dne 20. XII. 1958

Úvod

V poslední době se věnuje zvýšená pozornost účinkům antibiotik na fytopatogenní mikroorganismy, jak o tom svědčí např. souborné referáty Köhlerové (1950 a 1953) a Dunegana (1954), a do určité míry i kniha Köhlerové (1956).

Vzhledem k tomu, že boj proti prašné sněti u obilovin je stále obtížný a nebylo dosud nalezeno vhodných chemických mořících látek, je zajisté na místě zkoušení všech prostředků, jejichž kladné působení v tomto směru by se dalo předpokládat. Běžně jsou dnes zkoušeny na antibiotické účinky proti patogenům především látky původu houbového i bakteriálního. Tak podle Dunegana (1954) bylo již přezkoušeno asi 3000 různých antibiotických látek. Pokud jde o aplikaci na sněť prašnou, nacházíme v literatuře zatím jen velmi málo prací. Tak je to např. zmínka o pokusech s helixinem (Antibiotics...1955), dále antibiotický účinek kultury *Pseudomonas viscosa* na *Ustilago nuda* (Jens.) Rostr. (Chinn, Russell, 1956) a konečně pokusy s máčením osiva v kulturách některých bakterií a aktinomycet proti prašné sněti pšeničné. Poněvadž některé tyto práce měly kladné výsledky, považují jejich autoři (Nieman, 1957) nalezení vhodného mořidla tohoto typu za možné.

Jelikož se naskytla domněnka o možnostech určitého antibiotického působení mycelia *Psallioty campestris* L., opírající se o praktické zkušenosti s tzv. „vyplozenými“ žampionářskými komposty, tj. komposty po sklizni žampionů, použitými při přípravě pařeništní směsi, a poněvadž v našem ústavě probíhalo podrobné sledování odolnosti jednotlivých odrůd pšenice vůči *Ustilago tritici* (Pers.) Rostr. (Rod, 1958), rozhodli jsme se především přezkoušet účinek extraktů z podhoubí *Psallioty* vypěstovaného v čisté kultuře i přímo z kompostů po sklizni žampionů na tuto fytopatogenní houbu.

Pokusy byly rozvrženy podle následujícího schématu do tří sérií. V první sérii pokusů byl zkoušen vliv extraktu z uměle vypěstovaného mycelia čisté kultury *Psallioty* (na sterilních pšeničných obilkách): a) působícího v různé koncentraci, b) působícího různou dobu (různá doba moření) na obilky pšenice, vykládané jednak na Petriho misky, jednak vysévané na pokusné parcely.

Ve druhé sérii pokusů byl zkoušen vliv různě koncentrovaných extraktů z tak zvaných „vyplozených“ kompostů (komposty prorostlé myceliem, po sklizni žampionů) ve srovnání s vlivem extraktu z téhož kompostu, na němž však žampiony pěstovány nebyly, a vlivem vodovodní vody, a to jednak na klíčivost pšenice v laboratoři, jednak na klíčivost, vývoj i sílu napadení pšenice v polních pokusech.

Třetí série pokusů navazuje na předchozí pokusy, v nichž se ukázalo, že účinnost extraktů nelze pravděpodobně připisovat pouze působení mycelia *Psallioty*, nýbrž i další mikroflóře. Proto byly pokusy dále rozšířeny o průzkum účinnosti extraktů z hovězí a koňské chlévské mrvy, a to na klíčení, životnost a napadení pšenice.

Pracovní postup a metodika

K pokusům s účinkem extraktu z mycelia *Psalliota camp.* L. bylo používáno podhoubí získaného umělou kultivací na navlhčených sterilních pšeničných obilkách (75 g) ve skleněných vzorkovnicích.

Rozrůstající se mycelium tvořilo s obilkami kompaktní koláč; ten byl (po třech týdnech kultivace) rozřezán a při teplotě 60° C po 2 hod. extrahován v 400 ml destil. vody. Po filtraci byl extrakt používán k moření obilek (různé koncentrace extraktu, různá doba máčení obilek). Jeho působení bylo srovnáváno s působením sterilní vodovodní vody.

Ve druhé sérii pokusů bylo použito k moření pšenice extraktů s žampionářských kompostů (z koňské mrvy, 3krát až 4krát přeházeny v intervalech asi 10 dnů) „vyplozených“, to je po sklizni žampionů a kontrolních, na nichž nebyly žampiony pěstovány.

Extrakty byly získány ze 400 g kompostů extrahovaných 1800 ml destilované vody po dobu 2 hodin při teplotě 15° a 60° C.

Po filtraci byl roztok odpařován při 35° C až do $\frac{1}{5}$ svého objemu a sloužil dále ať již zředěný nebo koncentrovaný k moření pšenice; obilky byly při něm zcela ponořeny po různou dobu (viz dále) v extraktu. Jako kontrola sloužily obilky ošetřené sterilní vodovodní vodou i obilky nemořené.

Polní pokus, navazující na různou dobu moření v extraktu z uměle vypěstovaného mycelia (první pokusná série) byl proveden v roce 1954. Bylo k němu použito uměle infikovaného osiva náchylné jarní odrůdy Niva. Infikováno bylo v roce 1953 injekční metodou vodní suspenzí směsi spor, odebraných z jarních odrůd domácího původu. Ošetřené osivo bylo vysazeno individuálně, takže rostliny mohly být samostatně sklizeny a u každé mohlo být stanoveno napadení.

V polním pokuse, navazujícím na různou koncentraci extraktu z žampionářského kompostu (druhá pokusná série) a provedeném v roce 1955, bylo použito infikovaného a zdravého osiva velmi náchylné odrůdy Alpiner begrannt braunspelziger Binkel.

Ve třetí sérii pokusů prováděných v zimě 1955/56 a ve vegetačním období 1956, v nichž byla vyšetřována účinnost extraktu z chlévské mrvy na klíčivost, napadení snětí prašnou a některé další charakteristiky pšenice, bylo postupováno takto:

Vzorky vyšetřovaného osiva, uzavřené do organotinových sáčků, byly ponořeny na různě dlouhou dobu do suspenze v různém stupni proležené chlévské mrvy (hovězí a koňské), zředěné vodou v poměru 1 : 1, 1 : 2, 1 : 3, 1 : 4 a 1 : 5. Osivo bylo vyloženo do klíčidla, nebo dříve sušeno při pokojové teplotě asi na 100 až 120 % původní váhy. U předběžných laboratorních pokusů bylo pracováno se zdravým osivem jarní odrůdy Alpiner begannter braunspeiziger Binkel. Pro polní pokus bylo použito uměle infikovaného (injekční metodou vodní suspenzí směsi spor) osiva téže odrůdy. Osivo po zásahu vysušené bylo individuálně vysazeno a při sklizni byly stanoveny příslušné charakteristiky růstu a napadení.

Experimentální výsledky

V první sérii laboratorních pokusů byla zkoušena účinnost extraktu z uměle vypěstovaného mycelia v čisté kultuře. Především byla stanovena klíčivost a rychlost růstu zdravých obilek pšenice v závislosti na koncentraci extraktu (tab. I). V druhé řadě byl studován vliv různé doby máčení v extraktu ve srovnání s máčením ve vodě na klíčivost a rychlost růstu zdravých obilek pšenice (tab. II). Tento pokus, avšak za použití uměle infikovaného osiva, byl opakován a takto ošetřené osivo bylo pak vyseto v polním pokuse. Výsledky tohoto polního pokusu jsou shrnuty v těchto tabulkách: tab. III, udávající počet dozrálých rostlin, vyjádřený v procentech vysazených ošetřených zrn, a počet napadených rostlin, vyjádřený v procentech dozrálých rostlin. V prvním případě jde o charakteristiku životnosti jedinců z ošetřeného osiva, v druhém případě o stanovení účinnosti ošetření na stupeň napadení. Vzhledem k důležitosti obou charakteristik byly výsledky polního pokusu zpracovány metodou analýzy variance a stanovena průkaznost roz-

I. Vliv různých koncentrací extraktu z čisté kultury *Psalliotia campestris* L. na klíčení neinfikovaného osiva odrůdy Nivy

Charakteristika	Koncentrace extraktu					
	0 %	20 %	40 %	60 %	80 %	100 %
Procento vyklíčených zrn:						
po 4 dnech	92	94	96	92	76	84
po 7 dnech	92	95	96	92	89	90
Průměrná délka klíčku v mm: (po 7 dnech)	4,32	3,50	2,57	2,96	2,43	0,94

II. Vliv různé doby máčení na klíčení neinfikovaného osiva odrůdy Nivy v extraktu z čisté kultury *Psalliotia campestris* L.

Charakteristika	Máčeno v	Doba máčení v hodinách				
		0	6	12	18	24
Procento vyklíčených zrn po 7 dnech	extraktu vodě	95	92 97	92 95	85 98	88 91
Průměrná délka klíčku v mm po 7 dnech	extraktu vodě	2,12	2,01 3,98	2,33 1,73	3,61 4,97	2,68 3,55

III. Vliv různé doby máčení infikovaného osiva odrůdy Nivy v extraktu z čisté kultury *Psalliotia campestris* L. na počet dozrálých rostlin, vyjádřený v procentu vysazených ošetřených zrn a na počet všech napadených rostlin, vyjádřený v procentu všech dozrálých rostlin

Vliv na	Kombinace způsobu (extrakt, voda) a doby máčení	Máčeno hodin								Nemá- čeno
		v extraktu				ve vodě				
		6	12	16	24	6	12	16	24	
Procento do- zrálých rostlin	Vliv způsobu a doby	80,3	84,4	86,3	85,8	82,2	82,8	84,7	85,6	76,7
	Vliv doby (bez ohledu na způsob)									
	hodin 6	81,2								
	12		83,6							
	16			85,5						
	24				85,7					
	Vliv způsobu (bez ohledu na dobu)			84,2				83,8		
	Vliv máčení (bez ohledu na způsob a dobu)					84,0				
Procento rost- lin na- pade- ných celkem	Vliv způsobu a doby	76,6	74,5	75,0	74,5	76,7	73,9	66,5	71,1	78,9
	Vliv doby (bez ohledu na způsob)									
	hodin 6	76,6								
	12		74,2							
	16			70,6						
	24				72,8					
	Vliv způsobu (bez ohle- du na dobu)			75,1				72,0		
	Vliv máčení (bez ohledu na způsob a dobu)					73,6				

Stanovení průkaznosti rozdílů mezi průměry v rámci obou charakteristik.
Analýza variance

Proměnlivost způsobená	Stupně volnosti	Variance pro procento rostlin	
		dozrálých	napadených
Ošetřením	8	231,82	38,79
Opakováním	2	34,81	71,27
Experimentální chybou	16	508,95	35,71

dílů mezi průměry po jednotlivých zásazích. V tab. IV je uveden průměrný počet klasů po jednotlivých zásazích u všech kategorií rostlin, které se v porostu vyskytly, tj. rostliny zdravé, zcela a částečně napadené.

Na základě těchto pokusů a jejich výsledků shrnutých v tab. I—IV je možno činit tyto závěry: extrakt z čisté kultury působil na klíčivost do koncentrace 40 %

IV. Vliv různé doby máčení infikovaného osiva odrůdy Niva v extraktu z čisté kultury *Psalliotia campestris* L. na počet klasů u jednotlivých kategorií rostlin

Vliv na	Kombinace způsobu (extrakt, voda) a doby máčení	Máčeno								Ne- má- čeno
		v extraktu				ve vodě				
		6	12	16	24	6	12	16	24	
Prům. počet klasů u rostlin zdra- vých	Vliv způsobu a doby	3,86	3,20	3,23	3,36	3,80	3,33	3,10	3,50	3,83
	Vliv doby (bez ohledu na způsob)									
	hodin 6	3,83								
	12		3,27							
	16			3,17						
	24				3,43					
	Vliv způsobu (bez ohledu na dobu)		3,41				3,43			
	Vliv máčení (bez ohle- du na způsob a dobu)				3,42					
Zcela napade- ných	Vliv způsobu a doby	2,96	3,20	3,06	3,26	3,26	3,10	3,43	3,23	3,36
	Vliv doby (bez ohledu na způsob)									
	hodin 6	3,11								
	12		3,15							
	16			3,25						
	24				3,26					
	Vliv způsobu (bez ohledu na dobu)		3,12				3,26			
	Vliv máčení (bez ohledu na způsob a dobu)				3,19					
Částeč- ně na- pade- ných	Vliv způsobu a doby	3,86	3,96	3,63	4,00	4,26	4,70	4,53	3,90	4,36
	Vliv doby (bez ohledu na způsob)									
	hodin 6	4,06								
	12		4,33							
	16			4,08						
	24				3,95					
	Vliv způsobu (bez ohledu na dobu)		3,86				4,35			
	Vliv máčení (bez ohledu na způsob a dobu)				4,11					

mírně stimulačně, ve vyšších dávkách byl účinek znatelně brzdivý. Tento brzdivý účinek se projevil zejména při sledování průměrné délky klíčků, která se se zvyšující koncentrací pravidelně snižuje. Různá doba namáčení semen v extraktu před vlastním klíčením se projevila mírným snížením klíčivosti úměrně s prodlužováním se doby máčení a vcelku nižší klíčivosti proti máčení ve vodě. Tento brzdivý účinek je patrný i na délce klíčků. Pokud jde o procento dozrálých rostlin, čili do jisté míry o jejich životnost, má stupňování doby máčení proti nemáčené kontrole sice účinek stimulační, který se však v podstatě neliší od účinku máčení ve vodě. Závislost stupně napadení na máčení v extraktu nebo ve vodě má jednotnou, a to v obou případech klesající tendenci, která je však statisticky neprůkazná. Totéž platí obdobně o průměrném počtu klasů, který se u všech kategorií rostlin jeví proti rostlinám nemáčeným o něco nižší.

V. Vliv různých koncentrací extraktu z „vyplozeného“ žampionářského kompostu na klíčení neinfikovaného osiva odrůdy Niva a srovnání s extraktem z téhož kompostu, na němž však žampiony nebyly pěstovány. Extrakt byl získán: A. při teplotě 60° C, odpařen na 1/5 objemu, B. při teplotě 15° C, odpařen na 1/5 objemu, C. při teplotě 60° C, odpařen na 1/5 objemu, Ž. z vyplozeného kompostu, N. z kontrolního kompostu

Charakteristika	Máčeno v extraktu	Koncentrace extraktu v %				Nemá- čeno
		0	25	50	100	
Procento vyklíčených zrn po 7 dnech	AŽ	91	69	52	39	85
	BŽ	73	75	70	52	
	CŽ		38	—	12*	
	CN	79	77	—	67	
Průměrná délka klíčku v mm po 7 dnech	AŽ	2,27	1,63	0,66	0,55	4,18
	BŽ	2,54	1,34	1,01	0,63	
	CŽ		2,12	—	0,69	
	CN	2,92	3,16	—	2,24	

* Nevyklíčené obilky porůstají *Penniciliem* a *Mucorem*.

Ve druhé sérii pokusů byla zkoušena účinnost extraktu z přirozených žampionářských kompostů, a to jak v laboratorních, tak v polních pokusech. Výsledky všech laboratorních pokusů jsou shrnuty v tab. V. Byl v nich studován vliv různým způsobem připravených extraktů na klíčivost a rychlost růstu zdravých obilok pšenice Nivy. Vyluhován byl jednak tzv. vyplozený žampionářský kompost, tj. kompost, na němž byly žampiony pěstovány, a pro srovnání kontrolní kompost téhož složení, na němž však žampiony pěstovány nebyly. Mimo to bylo srovnáváno s osivem nemáčeným. Výsledky polních pokusů jsou shrnuty v tab. VI a VII. Byl v nich sledován vliv máčení infikovaného a zdravého osiva odrůdy Alpiner begrannter braunspelziger Binkel na počet dozrálých rostlin, vyjádřený v procentech vysazených zrn, na počet zcela napadených rostlin, vyjádřený v procentech všech napadených rostlin a na průměrný počet klasů u jednotlivých kategorií rostlin. Osivo bylo máčeno v extraktu z vyplozeného žampionářského a nevyplozeného kontrolního kompostu o 100 % a 25 % koncentrací a pro srovnání ve vodě. Rostliny, které zůstaly po všech uvedených zásazích zdravé, byly v laboratoři rozborovány, aby bylo zjištěno, jak dalece byl ovlivněn jejich růst a habitus (tab. VII).

Na základě těchto pokusů a jejich výsledků, uvedených v tab. V—VII, lze činit tyto závěry: Stupňování koncentrace extraktu z vyplozeného kompostu má

VI. Vliv máčení infikovaného a zdravého osiva odrůdy Alpiner begrannt braunspeiziger Binkel v extraktu 100% a 25% koncentrace, připraveném z žampionářského vyplozeného a kontrolního kompostu na: počet dozrálých rostlin, vyjádřený v procentech vysazených ošetřených zrn, počet všech napadených rostlin, vyjádřený v procentech dozrálých rostlin, počet zcela napadených rostlin, vyjádřený v procentech všech napadených rostlin, průměrný počet klasů u jednotlivých kategorií rostlin

Vliv na	Osivo	Kombinace zásahů bez ohledu na	Máčení v extraktu z žampionářského kompostu				Máčení ve vodě
			vyplozeného		kontrolního		
			při koncentraci				
			100%	25 %	100%	25 %	
Procento dozrálých rostlin	infikované	—	39,95	57,50	57,79	61,13	59,77
		koncentraci	48,72		59,46		
		koncentraci a druh kompostu	54,09				
	zdravé	—	70,88	64,09	78,63	80,83	55,86
		koncentraci	67,48		79,73		
		koncentraci a druh kompostu	73,61				
	průměr	—	55,42	60,80	68,21	70,98	57,82
		koncentraci	58,11		69,60		
		koncentraci a druh kompostu	63,85				
Procento celkem napade- ných rostlin	infikované	—	48,57	59,28	59,92	66,54	61,92
		koncentraci	53,91		63,23		
		koncentraci a druh kompostu	58,58				
	zdravé	—	1,25	2,12	4,62	1,42	4,11
		koncentraci	1,69		3,02		
		koncentraci a druh kompostu	2,35				
	průměr	—	24,91	30,70	32,27	33,98	33,02
		koncentraci	27,81		33,13		
		koncentraci a druh kompostu	30,47				
Procento zcela na- padených rostlin	infikované	—	44,70	44,00	55,62	53,07	54,04
		koncentraci	44,35		54,35		
		koncentraci a druh kompostu	49,35				
	zdravé	—	75,00	83,33	68,75	100,00	60,00
		koncentraci	79,17		84,37		
		koncentraci a druh kompostu	81,77				
	průměr	—	59,85	63,66	62,18	76,54	57,02
		koncentraci	61,76		69,36		
		koncentraci a druh kompostu	65,56				

Vliv na	Osivo	Kombinace zásahů bez ohledu na	Máčeno v extraktu z žam- pionářského kompostu				Máčeno ve vodě
			vyplozeného		kontrolního		
			při koncentraci				
			100%	25%	100%	25%	
Průměrný počet klasů u rostlin zdravých	infikované	koncentraci a druh kompostu	8,39		7,27		7,69
			7,83				
	zdravé	koncentraci a druh kompostu	7,21		6,84		8,18
			7,03				
	průměr	koncentraci a druh kompostu	7,81		7,05		7,94
			7,43				
U rostlin zcela na- padených	infikované	koncentraci a druh kompostu	6,65		5,42		5,79
			6,03				
	zdravé	koncentraci a druh kompostu	4,30		5,02		7,00
			4,66				
	průměr	koncentraci a druh kompostu	5,47		5,22		6,39
			5,35				
U rostlin částečně napade- ných	infikované	koncentraci a druh kompostu	9,05		7,84		7,64
			8,44				
	zdravé	koncentraci a druh kompostu	7,50		4,80		7,75
			6,15				
	průměr	koncentraci a druh kompostu	8,27		6,95		7,69
			7,61				

za následek snižování klíčivosti i růstové energie máčeného semene. Různá příprava extraktu neměla na výsledek podstatného vlivu. Extrakt z kontrolního kompostu se projevuje sice ve stejném inhibičním smyslu, ale v daleko menší míře. V polním pokuse, tj. u dospělých rostlin, není již vliv máčení v extraktu tak patrný. Pokud jde o procento dozrálých rostlin, má pouze vyplozený extrakt záporný účinek, především v silnější koncentraci, jde-li o porost z infikovaného osiva. U porostu z osiva zdravého se naopak jeví proti kontrole účinek kladný (stimulační), především u extraktu kontrolního. Celkové zvýšení životnosti v důsledku máčení v extraktech lze tedy přičíst především kladnému účinku na osivo zdravé. Pokud jde o procento napadených rostlin, jeví se sice určitý pokles v napadení po máčení v silnější koncentraci extraktu z vyplozeného kompostu, je však otázkou, zda není způsoben spíše větším hynutím rostlin v téže skupině. Počet zcela napadených rostlin v rámci všech napadených rostlin je u kategorie z infikovaného osiva po máčení v žampionářském extraktu snížen, u kategorie ze zdravého osiva zvýšen. Pokud jde o průměrný počet klasů, lze pozorovat určitý vzestup po máčení infikovaného osiva pouze v žampionářském extraktu, u osiva zdravého je patrný spíše pokles proti máčení ve vodě. Porovnáme-li u rostlin zdravých (u nichž se infekce neprojevila), účinek máčení v obou druhích extraktu s máčením ve vodě a semenem nemáčeným, ukazuje se, že tento zásah má kladný vliv na průměrný počet klasů, a to především u jedinců z infikovaného osiva, máčeného v nejsilnější koncentraci extraktu z žampionářského vyplozeného kompostu.

VII. Vliv máčení infikovaného a zdravého osiva odrůdy Alpiner begrannt braunspelziger Binkel z extraktu 100% a 25% koncentrace, připraveném z žampionářského vyplozeného a kontrolního kompostu na růst a habitus nenapadených rostlin (uveden průměr obou koncentrací)

Vliv na průměrný	Osivo	Máčeno v extraktu z žampionářského kompostu		Máčeno ve vodě	Nemáčeno
		vyplozeného	kontrolního		
Počet klasů	infikované	8,34 8,55 	8,76 8,55 	7,96	5,76
	zdravé	6,33 6,25 	6,18 6,25 	8,86	
	průměr	7,34 7,40 	7,47 7,40 	8,41	
Délku stébel	infikované	84,50 86,61 	88,73 86,61 	96,30	97,21
	zdravé	90,65 90,48 	90,31 90,48 	91,04	
	průměr	87,57 88,55 	89,52 88,55 	93,67	
Délku klasů	infikované	9,13 9,17 	9,21 9,17 	8,92	7,91
	zdravé	8,99 8,53 	8,07 8,53 	8,78	
	průměr	9,06 8,85 	8,64 8,85 	8,85	
Počet zrn z rostliny	infikované	198,75 207,99 	217,23 207,99 	175,63	121,03
	zdravé	158,89 142,45 	126,01 142,45 	180,93	
	průměr	178,82 175,22 	171,62 175,22 	178,28	
Váhu zrn z rostliny	infikované	6,41 6,53 	6,64 6,53 	5,32	3,79
	zdravé	4,99 4,26 	3,52 4,26 	5,36	
	průměr	5,70 5,39 	5,08 5,39 	5,34	

Průměrná délka stébel je naopak po máčení v extraktech znatelně snížena. U průměrné délky klasů, průměrného počtu a váhy zrn na jednu rostlinu lze pozorovat obdobnou tendenci jako v prvním případě. Máčení působí obecně příznivě, přičemž účinek je vystupňován především u jedinců z infikovaného osiva, máčených v extraktech z kompostů.

Výsledky třetí série pokusů, v nichž byl sledován vliv mikroflóry z chlévské mrvy na klíčivost a energii počátečního růstu, jsou zachyceny v tab. VIII, vliv

VIII. Vliv různé doby máčení neinfikovaného osiva odrůdy Alpiner begrannter braun-spelziger Binkel ve vodní suspenzi chlěvské mrvy na klíčivost a energii počátečního růstu

Osivo máčeno	Má- čeno hodin	Su- šeno hodin	Klí- čivost %	Ener- gie růstu (5-1)	Charakteristika
Ve vodní suspenzi hovězí mrvy (středněproleželé)	48	—	98,5	3,5	mírně zpožděná klíčivost (asi o 1 den)
	96	—	99,5	4	mírně zpožděná klíčivost (asi o 1 den)
	144	—	93,0	3,5	nestejnomořná klíčivost
	192	—	95,0	3,5	nestejnomořná klíčivost
	240	—	94,0	3,5	nestejnomořná klíčivost
Ve vodní suspenzi koňské mrvy (středněproleželé)	48	—	78,0	1	zpožděná klíčivost (asi o 1 až 3 dni)
	96	—	89,5	2	zpožděná klíčivost (asi o 1 až 3 dni)
	144	—	76,5	1	nestejnomořná klíčivost
	192	—	71,0	1	nestejnomořná klíčivost
	240	—	66,0	0,5	nestejnomořná klíčivost
Ve vodní suspenzi hovězí mrvy (silně proleželé)	48	24	34,3	1	zpožděná klíčivost (asi o 2 dny)
	96	24	0,0	0	neklíčí
	144	24	0,0	0	neklíčí
	192	24	5,3	0,5	nestejnomořná a špatná klíčivost
	240	24	3,3	0,5	nestejnomořná a špatná klíčivost
Ve vodní suspenzi koňské mrvy (málo proleželé)	48	24	99,0	5	klíčí rychle a stejnoměrně
	96	24	99,7	5	klíčí rychle a stejnoměrně
	144	24	98,9	5	klíčí rychle a stejnoměrně
	192	24	99,3	5	klíčí rychle a stejnoměrně
	240	24	98,0	5	klíčí rychle a stejnoměrně
Pouze ve vodě	48	—	100,0	5	normální klíčivost
	96	—	99,0	4	normální klíčivost, začíná klíčit již při máčení
	144	—	100,0	5	normální klíčivost, vyklíčilo již při máčení
	192	—	100,0	5	normální klíčivost, vyklíčilo již při máčení
	240	—	100,0	5	normální klíčivost, vyklíčilo již při máčení
Nemáčeno	—	—	99,9	4,5	klíčí pravidelně

na životnost a napadení rostlin v tab. IX. Ve všech případech byla mrva ředěna vodou v poměru 1 : 1. Byly zkoušeny i slabší koncentrace, které však výsledky neovlivnily a nejsou proto v tabulkách uváděny. Naproti tomu delší doba máčení snižovala nepatrně klíčivost a energii růstu, avšak ovlivnila sílu napadení, které s dobou máčení ve všech případech klesá. Jak vyplývá z tab. VIII, byla klíčivost a energie růstu ovlivněna především spíše stupněm prolezelosti (zralosti) mrvy než všemi ostatními faktory. Vliv silně prolezelé mrvy byl v tomto směru nepříznivý a vedl v krajním případě k úplnému zániku jedinců. Vysoušení semene po máčení nemělo na tyto okolnosti vliv. Bylo ho proto použito i v dalším polním pokuse (tab. IX), a to především proto, aby se podmínky tohoto pokusu přiblížily pěstitelské praxi. V tomto pokuse, kde bylo sice použito chlěvské mrvy dvojího druhu, avšak stejného středního stupně prolezelosti, se ukázalo, že se stoupající dobou máčení jednak klesá počet dozrálých rostlin (i při máčení v pouhé vodě), avšak klesá i počet rostlin napadených (pouze při máčení v suspenzi), což lze tedy přičíst především dostatečně dlouho působícímu účinku mrvy. Tato skutečnost se

projevuje i na současně klesajícím počtu zcela napadených rostlin. Průměrný počet klasů u jednotlivých kategorií rostlin se nezdá být vlastními zásahy podstatně ovlivněn.

Rozbor výsledků

Při vzájemném srovnání a zvážení dosažených dílčích výsledků je možno dojít k určitým závěrům, avšak otvírá se současně i řada dalších sporných otázek.

V první pokusné sérii je to především otázka zřejmě brzdivého účinku extraktu z čisté kultury *Psallioty campestris* L. na biologické pochody, především růst rostlin. Tento účinek lze zvyšováním koncentrace a prodlužováním doby máčení stupňovat. Předpokládaných výsledků, tj. zbrzdění vývoje parazita [*Ustilago tritici* (Pers.) Rostr.] dosaženo nebylo. Zůstává otázkou, zda tato skutečnost není způsobena daleko větší citlivostí vlastního hostitele, což se projevuje u obilek sníženou klíčivostí, u rostlin nižším počtem klasů, než citlivostí parazita.

Z výsledků druhé pokusné série vyplývá, že extrakt z žampionářských vyplozených kompostů má obdobný brzdivý, ale ještě silnější účinek na klíčení a energii růstu neinfikované pšenice. Touto skutečností je znovu potvrzen antibiotický účinek extraktů *Psallioty* na rostlinu. Na tomto místě je vhodné znovu připomenout zajímavé pozorování z laboratorní přípravy extraktů. Zatím co po bezprostřední přípravě extraktů z obou druhů kompostů nebyly mezi těmito patrný žádné rozdíly ani v barvě ani v zápachu extraktu, během několika dní se objevila u extraktu z neoplozeného kompostu hnilobná mikroflóra, která utvořila na povrchu silnější blanku; bakteriální zákal a extrakt sám začal zapáchat po fekáliích. Naproti tomu extrakt z vyplozeného kompostu zůstal bez bakteriálního zákalu i blanky (relativně čirý) a jevil dosti ostrý fenolový zápach. Lze předpokládat, že zde jde o částečný rozpad molekul huminových kyselin na jednodušší látky, (pyrokatechinový cyklus). Tato skutečnost opět potvrzuje, že v extraktu z kompostu vyplozeného byly antibiotické látky, potlačující i běžnou hnilobnou mikroflóru. Při přezkoušení působnosti extraktů na semena infikovaná se projevil v polním porostu opět brzdící účinek kompostů vyplozených. Naproti tomu účinek extraktu z kompostů vyplozených u neinfikovaného a neoplozených kontrolních u infikovaného osiva se od kontroly v podstatě neodchyluje, u zdravého osiva bylo možno při použití extraktů z kompostů kontrolních stanovit určité stimulační působení. Tato skutečnost je opět plně v souladu s předchozími závěry o antibiotickém působení extraktu z vyplozeného kompostu. Tento účinek se projevil především u osiva infikovaného, o němž lze předpokládat určité oslabení proti osivu zdravému. Přesto, že je možno konstatovat určité snížení napadení, je nutno přičítat tuto skutečnost spíše uhynutí většího počtu rostlin v důsledku jejich větší citlivosti. Z této části pokusů je jasně patrné zákonité působení podporujících se neb vzájemně se rušících faktorů na životnost rostlin. Otevřenou otázkou ovšem zůstává, které složky u extraktů z kontrolních neoplozených kompostů působí stimulativně.

Určitým doplňkem v tomto směru je poslední skupina pokusů. Dosud používané extrakty byly totiž připraveny z kompostů, naproti tomu v poslední pokusné sérii byl proveden průzkum působení extraktů z mrvy. Podle údajů literatury probíhá v kompostu zřetelný humifikační proces, vedoucí k tvorbě huminových kyselin, které se — jak uvádí Novák (1958) — velmi podobají kyselinám z půdy, kdežto huminové kyseliny, extrahované jak z čerstvé chlévské mrvy, tak z uzrálého hnoje, jsou od nich odlišné. I když zde tedy jde o chemicky poněkud jiný komplex látek, je přesto možno nalézt obdobu s působením extraktů z kompostů. S vyšší uleželostí mrvy stoupá zřetelně antibiotické působení extraktu z ní připra-

IX. Vliv různé doby máčení infikovaného osiva odrůdy Alpiner begranter braun-

Osivo máčeno	Máčeno hodin	Váha vzorku v % váhy před zásahem po		Počet dozrálých rostlin v % počtu vysazených zrn
		máčení	sušení	
Ve vodní suspenzi hovězí mrvy	48	138	114	94
	96	151	115	83
	144	152	118	77
	196	154	116	72
	240	157	112	65
Ve vodní suspenzi koňské mrvy	48	136	107	78
	96	146	112	89
	144	149	116	87
	196	153	113	86
	240	153	113	77
Pouze ve vodě	48	141	110	81
	96	147	114	87
	144	155	121	83
	196	158	113	75
	240	163	114	75
Nemáčeno	—	—	—	86

veného, v krajním případě až k úplnému lethálnímu účinku. Naproti tomu, použije-li se středně uleželá mrva, stává se důležitým faktorem doba máčení. Zde je již patrné, že antibiotický účinek dostává určitý selektivní charakter vůči parazitu. Přežití infikovaných rostlin je i zde poněkud nižší, ale přežití parazita v infikovaných rostlinách je sníženo daleko více, takže nejde o lineární závislost obou jevů; to znamená, že tento kladný výsledek sníženího napadení není způsoben jen uhynutím infekcí zeslabených rostlin, ale jde o přímý antibiotický účinek extraktu vůči *Ustilago tritici* (Pers.) Rostr. Tato skutečnost vyplývá jasně, sestavíme-li přehledné schéma na základě tab. VI a IX, v němž porovnáme účinnost extraktů z kompostů vyplozených a kontrolních a extraktů z mrvy proti vodě. Vzhledem k tomu, že jde o zachycení selektivity parazita, je nutno uvažovat pouze charakteristicky ve schématech dále uvedené.

Schéma č. 1

Charakteristika rostlin	Účinek extraktu z				
	čisté kultury <i>Psallioty</i>	žampionářského kompostu		mrvy uleželé	
		kontrolního	vyplozeného	středně	silně
Dozrávání	neovlivněno	neovlivněno	nižší	nižší	neklíčí, letální působení
Napadení	vyšší	neovlivněno	podstatně nižší	podstatně nižší	—

Počet všech napadených rostlin v % dozrálých rostlin	Počet zcela napadených rostlin v % všech napadených rostlin	Průměrný počet klasů u rostlin		
		zdravých	napadených	
			zcela	částečně
61,70	77,58	5,44	3,93	5,84
51,80	74,41	4,92	4,43	4,36
54,54	71,42	4,88	4,40	5,33
30,55	63,63	4,52	3,92	5,50
6,15	25,00	4,39	1,00	4,0
53,84	69,04	4,94	4,51	4,84
56,17	72,00	4,17	3,69	4,21
44,82	66,66	4,87	3,65	5,76
51,16	79,54	4,80	3,57	4,33
37,66	48,27	4,64	4,07	4,33
50,61	68,29	4,47	4,35	5,76
55,17	72,91	4,17	3,93	4,30
50,60	73,80	4,68	3,80	4,45
57,33	83,72	3,71	3,77	4,00
49,33	78,37	4,10	3,20	5,00
52,32	93,33	4,36	3,59	2,33

Především je třeba si ve schématu povšimnout, že *Psalliota* působí elektivněji co do inhibice na hostitele než na parazita. Sám extrakt z kompostu kontrolního neprojevuje účinky ani na hostitele ani na parazita ve srovnání s účinkem vody; ale extrakt z kompostu vypleného jeví silné inhibiční účinky na parazita. Jde zde tedy zřejmě o působení zplodin rozkladných procesů daného živného substrátu, vyvolaných v tomto případě nejpravděpodobněji *Psalliotou*. Poněvadž však extrakt z mrvy středně uleželé působí jak na hostitele, tak na parazita zcela obdobně a jeho antibiotické účinky se s uleželostí mrvy zvedají až k působení lethálnímu, jsme oprávněni se domnívat, že tedy nejen *Psalliota*, ale i některé složky mikroflóry uvolňují svou činnost z mrvy, eventuálně z kompostu látky s obdobným účinkem. O jaký komplex látek jde, nelze na základě této práce blíže určit. Jisté však je, že se zde otvírají nové perspektivy, které by si vyžádaly dalších podrobnějších studií.

Souhrn

Byla studována možnost využití antibiotických účinků zplodin metabolismu některých hub a mikroorganismů pro boj („biologické moření“) proti sněti prašné [*Ustilago tritici* (Pers.) Rostr.].

1. Bylo zjištěno, že extrakt z čisté kultury *Psalliota camp.* L. klíčivost zdravého osiva pšenice v nižších koncentracích stimuluje, ve vyšších brzdí (tab. I).

Prodlužování doby máčení v extraktu (ve srovnání s vodou) snižuje klíčivost i růst klíčků (tab. II).

Počet dozrálých rostlin vyrostlých z uměle infikovaného semene (injekční metodou vodní suspenzí spor) se při máčení v extraktu i ve vodě (ve srovnání s osivem nemáčeným) zvyšuje, počet napadených rostlin se slabě a neprůkazně snižuje (tab. III); stejně tak se snižuje průměrný počet klasů u rostlin zdravých i napadených, ať částečně nebo zcela (tab. IV).

2. Extrakt z žampionářského „vyplozeného“ kompostu snižuje úměrně se stoupající koncentrací klíčivost i růst klíčků máčeného zdravého semene ve srovnání se semenem nemáčeným. Extrakt z kompostu kontrolního (bez žampionů) působí obdobně, ale mnohem slaběji (tab. V).

V porovnání s máčením ve vodě (kontrola) se máčení osiva v extraktu z kompostů projevilo na počtu dozrálých rostlin takto (tab. VI):

osivo:	extrakt z kompostu:	
infikované	vyplozeného	snížení
infikované	kontrolního	rovno kontrole
zdravé	vyplozeného	mírné zvýšení
zdravé	kontrolního	zvýšení

Máčením infikovaného osiva v extraktu z „vyplozeného“ kompostu (v porovnání s kompostem kontrolním a vodou) se dále mírně snižuje počet napadených i zcela napadených rostlin za současného zvýšení průměrného počtu klasů (tab. VI).

Rostliny z infikovaného semene, u nichž se infekce neprojevila, vykazují po máčení v extraktu z obou kompostů (ve srovnání s máčením ve vodě a semenem nemáčeným) vyšší počet a větší délku klasů, větší počet a váhu zrn, avšak nižší délku stébel.

3. Vodní suspenze chlévské mrvy hovězí a koňské (voda : mrva = 1 : 1) při stupňování doby máčení (48 až 240 hod.) snižuje v porovnání s účinkem vody u zdravého osiva nepatrně klíčivost a energii růstu, kdežto u infikovaného osiva snižuje znatelně počet dozrálých rostlin a velmi silně počet rostlin napadených i zcela napadených (tab. III). Účinek se stupňuje s prolezelostí mrvy.

Závěrem je možno konstatovat, že provedený pokus o biologické moření, tj. především o snížení napadení, dal určité kladné výsledky u extraktu z žampionářského „vyplozeného“ kompostu. Avšak vzhledem ke stimulačním účinkům extraktu z kompostu kontrolního na hostitele se stává otázkou, která z uvedených složek je vedoucím faktorem.

Přesto, že tedy nebylo v pokusech dosaženo přímo v praxi použitelných prostředků k účinnému potírání sněti, ukazují výsledky na další perspektivy v hledání látek antibiotického charakteru se specifickou působností na parazita. Jde výhledově především o zplodiny metabolismu mikroorganismů, které by bylo možno získávat běžně v zemědělském provozu.

Literatura

1. Dunegan J. C.: Antibiotics in Plant Disease Control. Jour. Agric. Food Chem. 2:20, 1954. — 2. Chinn S. H. F., Russel R. C.: Antagonistic Activity of Microorganisms in the Control of Barley Smuts. Canad. Jour. Agric. Sci. 36:1, 1956. — 3. Köhler H.: Antibiotika und ihre Bedeutung in der Pflanzenpathologie. Nachrichtenbl. f. den Deutsch. Pflanzenschutzdienst 4:9-10, 1950; 6:1, 1953. — 4. Köhler H.: Einführung in die Methoden der pflanzlichen Antibiotikaforschung. Deutsche Akad. der Land. Wissensch., Wissensch. Abhandlungen No 13., Berlin 1956. — 5. Niemann K.: (Nové cesty k potírání prašné sněti pšenice a ječmene *Ustilago tritici* [Pers.] a *Ustilago nuda* [Jens.] Rostr.). Zeitsch. f. Pfl. Krankheiten u. Pfl. Schutz 64:2, 1957. — 6. Novák B.: Tvorba humusu ve statkových hnojivech. Sborník ČSAZV, Rostl. výr.

4:6-7, 1958. — 7. Rod J.: Geneticko-fysiologická studie resistance pšenice proti sněti prašné - I, Sborník ČSAZV, Rostl. výr. 4:5, 1958; II, III. - v tisku tamtéž. — 8. Sime: Antibiotics in Disease Control. Agric. Chemicals 10:2, 1955.

Генетическо-физиологическое изучение устойчивости пшениц против пыльной головни

IV. Опыт с «биологическим протравливанием»

Изучалась возможность использования антибиотического действия продуктов метаболизма некоторых грибов и микроорганизмов в борьбе («биологическое протравливание») против пыльной головни (*Ustilago tritici* (Pers.) Rostr.).

1. Было установлено, что экстракт чистой культуры *Psalliota camp.* L. в более низких концентрациях стимулирует всхожесть здорового посевного материала пшеницы, в более высоких — тормозит (табл. I).

Увеличение срока замачивания в экстракте (по сравнению с водой) снижает всхожесть и рост ростков (табл. II).

Число созревших растений, выросших из искусственно инфицированных семян (инъекционным методом водной суспензии спор), при замачивании в экстракте и в воде (по сравнению с посевным материалом незамоченным) повышается, число пораженных растений слабо и недостоверно снижается (табл. III); одинаково также снижается среднее число колосьев как у здоровых растений, так и у частично или полностью пораженных (табл. IV).

2. Экстракт из компоста, давшего уже урожай шампиньонов, пропорционально повышающейся концентрации снижает всхожесть и рост ростков замоченных здоровых семян по сравнению с семенами незамоченными. Экстракт из контрольного компоста (без шампиньонов) действует подобно, но гораздо слабее (табл. V).

Замачивание посевного материала в экстракте из компоста по сравнению с замачиванием в воде (контроль) оказало следующее влияние на число созревших растений (табл. VI):

Посевной материал:	экстракт из компоста	
инфицированный	после шампиньонов	снижение
„	контрольного	равно контролю
здоровый	после шампиньонов	слабое повышение
„	контрольного	повышение

В результате замачивания инфицированного посевного материала в экстракте из компоста, давшего уже урожай шампиньонов (по сравнению с контрольным компостом и водой), в дальнейшем постепенно снижается число частично и полностью пораженных растений при одновременном повышении среднего числа колосьев (табл. VI).

Растения из инфицированных семян, у которых инфекция не проявилась, дают после замачивания в экстракте из обоих компостов (по сравнению с замачиванием в воде и семенами незамоченными) большее число и большую длину колосьев, большее число и вес зерен, однако меньшую длину стеблей.

3. Водная суспензия навоза крупного рогатого скота и лошадей (вода : навоз = 1 : 1) при повышении времени замачивания (48 — 240 часов) по сравнению с действием воды незначительно снижает у здоровых семян всхожесть и энергию роста, в то время как у инфицированных семян снижается заметно число созревших растений и очень сильно число растений, частично и полностью пораженных (табл. III). Действие навоза повышается со степенью его зрелости.

В заключение можно констатировать, что проведенный опыт с биологическим протравливанием, т. е. прежде всего со снижением поражаемости, дал определенные положительные результаты у экстракта из компоста, давшего уже урожай шампиньонов. Однако, ввиду стимулирующих действий экстракта из контрольного компоста на хозяина, возникает вопрос, какой из приведенных компонентов является ведущим фактором.

Несмотря на то, что в результате опытов и не были для эффективной борьбы с головней получены непосредственно на практике применимые препараты, все же они свидетельствуют о дальнейших перспективах в изыскании веществ антибиотического характера со специфическим действием на паразита. В будущем дело будет прежде всего касаться продуктов метаболизма микроорганизмов, которые можно было бы нормально получать в сельскохозяйственном производстве.

Genetisch-physiologische Studie der Resistenz des Weizens gegen Flugbrand

IV. Versuch mit der „biologischen Beizung“

Es wurde die Möglichkeit der Ausnutzung der antibiotischen Wirkung der Produkte des Metabolismus einiger Pilze und Mikroorganismen zur Bekämpfung („biologischen Beizung“) des Flugbrandes (*Ustilago tritici* [Pers.] Rostr.) studiert.

1. Es wurde festgestellt, daß ein Extrakt der Reinkultur *Psalliotta camp.* L. die Keimkraft gesunden Weizensaatguts in geringerer Konzentration stimuliert, in höherer Konzentration hemmt (Tab. No. I).

Die Verlängerung der Dauer des Eintauchens in den Extrakt (im Vergleich mit Wasser) setzt die Keimkraft und das Wachstum der Keime herab (Tab. No. II).

Die Anzahl völlig reifer, aus dem künstlich infizierten Samen (mittels der Injektionsmethode mit einer Wassersuspension der Sporen) entstandener Pflanzen erhöht sich beim Eintauchen sowohl in den Extrakt als auch ins Wasser (im Vergleich mit dem nicht eingeweichten Saatgut), die Anzahl der befallenen Pflanzen verringert sich unbedeutend und nicht signifikant (Tab. No. III) und es verringert sich auch die durchschnittliche Anzahl der Ähren sowohl bei gesunden als auch teilweise oder völlig befallenen Pflanzen (Tab. No. IV).

2. Extrakt aus Champignonzucht-Kompost, der bereits „Früchte getragen hat“, vermindert parallel mit der ansteigenden Konzentration die Keimkraft und das Wachstum der Keime des gewaschenen gesunden Samens im Vergleich mit nicht eingeweichten Samen. Extrakt aus Kontrollkompost (ohne Champignons) wirkt analog, jedoch bedeutend schwächer (Tab. No. V).

Verglichen mit dem Eintauchen in Wasser (Kontrolle) gelangte das Eintauchen des Saatguts in den Kompostextrakt in der Anzahl völlig reifer Pflanzen zum Ausdruck (Tab. No. VI).

Saatgut:	Kompostextrakt:	
infiziertes	bereits verwendeter Kompost	Verminderung
infiziertes	Kontrollkompost	der Kontrolle gleich
gesundes	bereits verwendeter Kompost	mäßige Steigerung
gesundes	Kontrollkompost	Steigerung

Durch das Eintauchen des infizierten Saatguts in den Extrakt aus bereits verwendetem Kompost verringert sich ferner mäßig (im Vergleich mit dem Kontrollkompost und Wasser) die Anzahl der befallenen und völlig befallenen Pflanzen unter gleichzeitiger Erhöhung der durchschnittlichen Ährenanzahl (Tab. No. VI).

Die Pflanzen aus infiziertem Samen, bei denen keine Infektion auftrat, weisen nach dem Eintauchen in den Extrakt aus beiden Kompostarten (im Vergleich mit dem Einweichen in Wasser und mit nicht eingeweichten Samen) eine höhere Anzahl und größere Länge der Ähren, eine höhere Anzahl und ein höheres Gewicht der Körner, jedoch eine geringere Länge der Stengel auf.

3. Eine Wassersuspension von Rinder- und Pferdedung (Wasser : Mist = 1 : 1) führt bei der Verlängerung der Dauer des Eintauchens (48 bis 240 Stunden) im Vergleich mit der Wirkung von Wasser bei gesundem Saatgut zu einer unbedeutenden Verringerung der Keimkraft und Wachstumsenergie, während sie bei infiziertem Saatgut die Anzahl der völlig reifen Pflanzen merklich verringert und die Anzahl der befallenen und völlig befallenen Pflanzen sehr stark herabsetzt (Tab. No. III). Die Wirkung verstärkt sich mit dem Verrottungsgrad des Dungs.

Abschließend kann konstatiert werden, daß der durchgeführte Versuch mit der biologischen Beizung, d. h. vor allem mit der Verminderung des Befalls durch den Extrakt aus Champignonzucht-Kompost, der bereits „Früchte getragen“ hat, gewisse positive Ergebnisse zeigte. Jedoch ist es in Anbetracht der stimulierenden Wirkung des Extraktes aus dem Kontrollkompost auf die Wirtspflanze fraglich, welche der genannten Komponenten den Hauptfaktor darstellt.

Obwohl also in den Versuchen nicht in der Praxis direkt anwendbare Mittel zur wirksamen Bekämpfung des Flugbrands erworben wurde, eröffnen die Ergebnisse neue Perspektiven bei der Suche nach Stoffen antibiotischen Charakters mit spezifischer Wirkung auf den Parasiten. Es geht in Zukunft vor allem um die Produkte des Metabolismus der Mikroorganismen, die im landwirtschaftlichen Betrieb laufend erworben werden könnten.

Účinnost anaerobního moření proti prašné sněti ovesné

Эффективность анаэробного протравливания против пыльной головни овса

Wirkung der anaeroben Beizung gegen den Haferflugbrand

Efficacy of Anaerobic Treatment Against the Loose Smut of Oats

Inž. Pavel BARTOŠ, inž. Jiří ZEMÁNEK

Výzkumný ústav rostlinné výroby ČSAZV, Ruzyně

Došlo dne 8. IV. 1959

Úvod

Anaerobním mořením se rozumí takový zákrok, kdy se osivo se zvýšenou vlhkostí vystaví na určitou dobu anaerobním podmínkám. Zvýšení vlhkosti se dosahuje buď máčením ve vodě po určitou dobu nebo ovlhčením osiva určitým množstvím vody; anaerobní podmínky se dosahují nejsnáze uzavřením osiva do hermeticky těsnících nádob, v nichž se kyslík záhy spotřebuje dýcháním semen. Kromě vlhkosti osiva a délky trvání anaerobního uzavření je při tomto zákroku důležitá teplota.

Anaerobním mořením jsme se podrobně zabývali u ječmene ve snaze nahradit termické moření jednodušší a bezpečnější metodou. Kromě praktických pokusů, sledujících zjištění nejvhodnějšího způsobu tohoto moření pro praktické provádění (Zemánek, Bartoš, 1957), byly konány i pokusy, jejichž účelem bylo zjistit mechanismus účinku tohoto způsobu moření, s čímž souviselo vyzkoušení účinnosti anaerobního moření i u některých jiných chorob kromě prašné sněti ječmenné. Součástí těchto pokusů, jejichž souhrnné výsledky byly již uvedeny v předběžném sdělení (Zemánek, Bartoš, 1958), je i tato práce.

Všeobecná část

V nedávné době zkoušeli Arny a Leben (1956) vliv dlouhodobého máčení semen ve vodě na výskyt některých chorob, přenášených semeny. Tito autoři zjistili, že máčení semen ve vodě po 56 hodin při teplotě 24–26°C je účinné proti četným patogenním houbám: *Helminthosporium victoriae*, *Helminthosporium sativum*, *Helminthosporium gramineum*, *Ustilago avenae*, *Ustilago kolleri*, *Ustilago hordei*, *Ustilago nuda*, *Tilletia foetida*.

Vliv delšího máčení semen ve vodě na jejich ozdravení od prašné sněti pšeničné a ječmenné je znám již delší dobu. Tak Störmer (1912) dosahoval účinku u prašné sněti ječmenné máčením ve vodě při mírně zvýšené teplotě 35°C

za 12 hodin, Z a l e s s k i j (1935) potíral dlouhodobým máčením ve vodě prašnou sněť pšeničnou.

V novější době se zabývala mořením ječmene máčením ve vodě řada pracovníků, z nichž zejména Tyner a Russel (Tyner, 1951; Tyner, 1953; Russel, Tyner, 1954) provedli jako první rozsáhlejší pokusy, prakticky i teoreticky zaměřené, jež byly podnětem ke studiu mechanismu účinku tohoto způsobu moření, jak je podrobně uvedeno v naší práci (Zemánek, Bartoš, 1958).

Účinek dlouhodobého máčení ve vodě se vysvětluje v podstatě trojím způsobem: 1. činností mikroilóry při máčení mohou vznikat antibiotika nebo různé organické kyseliny fungistatické či fungicidní povahy; 2. anaerobním dýcháním osiva vznikají látky, jež mohou být pro mycelium toxické, případně fyziologickými procesy při máčení vznikají jiné toxické látky (např. chinony); 3. anaerobní podmínky mohou přímo potlačit patogena. Tyto různé výklady mechanismu účinku byly podloženy různými experimentálními pracemi, což svědčí o složitosti tohoto problému a možnosti existence více účinných principů, případně jejich komplexního působení. I když se tedy dosud nepodařilo zcela objasnit vlastní mechanismus účinku, je účinnost vždy spojena s anaerobními podmínkami, jimž je osivo vystaveno při dlouhodobém máčení.

Na základě této okolnosti, že totiž pro účinnost dlouhodobého máčení jsou rozhodující anaerobní podmínky, bylo dlouhodobé máčení ve vodě nahrazeno uzavřením ovlhčeného nebo předmáčeného osiva po určitou dobu bez přístupu vzduchu, tedy tak zvaným anaerobním mořením, a to u prašné sněti ječmenné (H e b e r t, 1955) a později i prašné sněti pšeničné (N i e m a n n, 1958).

Účinnost anaerobního moření proti prašné sněti ječmenné nás vedla k domněnce, že anaerobní moření bude účinné i proti prašné sněti ovesné, jež byla též redukována dlouhodobým máčením ve vodě (A r n y, L e b e n, 1956) a jež je, podobně jako prašná sněť ječmenná, rovněž potíratelná termickým mořením (Z i l l i g, 1932). Tuto domněnku jsme chtěli ověřit a zároveň jsme chtěli získat experimentální údaje ke studiu vztahu mezi mechanismem účinku moření dlouhodobým máčením, anaerobním mořením a mořením termickým, kteréžto vztahy studovali již u prašné sněti pšeničné N i e m a n n, 1958 a P i c h l e r, 1958. Vzhledem k tomu, že zdroj infekce je na rozdíl od prašné sněti ječmenné lokalizován na poměrně dostupném místě (převážně pod pluchami), považovali jsme prašnou sněť ovesnou za vhodný objekt i z hlediska studia vlastního mechanismu účinku. Přitom jsme vycházeli z předpokladu, že se nejen při umělé infekci loupaním obilek, ale v určité míře i při vakuové infekci uplatňují spory jako zdroj infekce. K tomuto předpokladu nás vedlo pozorování, že po umělé infekci vakuovou metodou byla jen část spor vyklíčena, kdežto další spory klíčily až po jejich přenesení na vodný agar. Cílem naší práce bylo tedy zjistit: 1. zda je anaerobní moření účinné i proti prašné sněti ovesné, 2. jaký je mechanismus účinku anaerobního moření u prašné sněti ovesné.

Část experimentální

Materiál a metody

Oves užívaný k pokusům byl uměle infikován prašnou snětí ovesnou vakuovou metodou (2 g spor na 1 l vody), v některých případech též protřepáním oloupaných obilek se sporami, jak je dále uvedeno. K pokusům bylo užito jednak náchylného křížence „C“ (VŠS Větrov), jednak 9 odrůd ze sortimentu čs. povolených odrůd. Oves kříženec „C“ byl kromě umělé infekce též silně přirozeně

napaden snětí. Osivo bylo předmáčeno nebo ovlhčováno vodou při teplotě 22° C a anaerobně uzavíráno do zavařovacích lahví, v nichž bylo ponecháno po 1–4 dny při teplotě 22° C, případně 26° C. Klíčivost semen byla zjišťována po vysušení na původní vlhkost na křemenném písku, klíčivost spor na vodném agaru v Petriho miskách. Byl zjišťován počet vyklíčených spor ihned po založení klíčivosti, za 24 hodin a zjištěný výsledek ověřován po 2 dnech. Polní pokusy byly zakládány v Ruzyni, vzorky byly vysévány na parcely 3 m² (1957) nebo 1 m² (1958) ve třech opakováních. Prováděly se běžné vegetační záznamy, napadení se zjišťovalo podle počtu snětivých lat.

1. Účinnost anaerobního moření proti prašné sněti ovesné

Množství vody při ovlhčování, doba předmáčení i vlastního anaerobního moření byla zvolena v roce 1957 podle pokusů s anaerobním mořením ječmene, kde se osvědčilo 2–4hodinové předmáčení nebo ovlhčení 20 l vody na 1 q osiva a anaerobní uzavření na 4 dny při 22° C. Kromě těchto variant bylo zkoušeno ovlhčení 40 l vody na 1 q osiva a anaerobní uzavření na 2 a 3 dny; výsledky jsou uvedeny v tabulce I.

I. Anaerobní moření ovsa — polní pokus 1957

Ošetření	Relativní snížení snětivosti v procentech
Ovlhčeno 20 l/q, uzavřeno 2 dny anaerobně při 22°C	57,37
Ovlhčeno 20 l/q, uzavřeno 3 dny anaerobně při 22°C	22,66
Ovlhčeno 20 l/q, uzavřeno 4 dny anaerobně při 22°C	45,00
Ovlhčeno 40 l/q, uzavřeno 3 dny anaerobně při 22°C	99,82
Máčeno 2 hod., uzavřeno 2 dny anaerobně při 22°C	94,73
Máčeno 2 hod., uzavřeno 3 dny anaerobně při 22°C	98,19
Kontrola (nemořeno) průměrný počet snětivých lat na 1 m ²	182,43
Kontrola (máčeno 2 hod.) průměrný počet snětivých lat na 1 m ²	146,76

Jak je patrné z tabulky, byly málo účinné zákroky, při kterých bylo osivo ovlhčováno dávkou 20 l vody na 1 q osiva, a to i při anaerobním uzavření po 4 dny. Naproti tomu zvýšení vlhkosti osiva před mořením dávkou 40 l vody na 1 q osiva vedlo k plnému účinku při třídním anaerobním uzavření.

II. Anaerobní moření ovsa — polní pokus 1958

Ošetření	Relativní snížení snětivosti v procentech
Ovlhčeno 20 l/q, uzavřeno 2 dny anaerobně při 22°C	83,4
Ovlhčeno 30 l/q, uzavřeno 2 dny anaerobně při 22°C	100,0
Ovlhčeno 40 l/q, uzavřeno 2 dny anaerobně při 22°C	100,0
Ovlhčeno 20 l/q, uzavřeno 3 dny anaerobně při 22°C	99,4
Ovlhčeno 30 l/q, uzavřeno 3 dny anaerobně při 22°C	100,0
Ovlhčeno 40 l/q, uzavřeno 3 dny anaerobně při 22°C	100,0
Ovlhčeno 40 l/q, uzavřeno 1 den anaerobně při 26°C	97,5
Kontrola (nemořeno) procento napadení	16,2

V roce 1958 byly znovu zkoušeny různé dávky vody k ovlhčování osiva (20, 30, 40 l/q) s následujícím dvoudenním a třídním uzavřením.

Jak je patrné z tabulky II, byl v tomto roce značně účinný i anaerobní zákrok po ovlhčení 20 l/q, i když ne 100 % jako zákroky s dávkou 30 a 40 l/q. Kromě dvou- a třídního anaerobního uzavření při 22° C se zkoušelo obdobně jako u prašné sněti ječmenné kratší moření při vyšší teplotě; bylo zjištěno, že i jednodenní uzavření při 26° C je dostatečně účinné proti prašné sněti ovesné.

K ověření účinku anaerobního moření u různých odrůd byl založen pokus s 5 odrůdami; bylo zkoušeno dvou- a třídní anaerobní uzavření při 22° C po dvouhodinovém předmáčení.

III. Anaerobní moření ovsa — odrůdový pokus 1958 (předmáčeno 2 hodiny)

Odrůda a ošetření	Relativní snížení snětivosti v procentu (u kontrol procento napadení)
Český — 2 dny anaerobně uzavřeno při 22° C	99,6
Český — 3 dny anaerobně uzavřeno při 22° C	100,0
Český — kontrola	25,4
Chlumecký žlutý — 2 dny anaerobně uzavřeno při 22° C	100,0
Chlumecký žlutý — 3 dny anaerobně uzavřeno při 22° C	100,0
Chlumecký žlutý — kontrola	2,7
Rychlík — 2 dny anaerobně uzavřeno při 22° C	100,0
Rychlík — 3 dny anaerobně uzavřeno při 22° C	99,9
Rychlík — kontrola	39,3
Studnický — 2 dny anaerobně uzavřeno při 22° C	99,9
Studnický — 3 dny anaerobně uzavřeno při 22° C	100,0
Studnický — kontrola	29,0
Irbít — 2 dny anaerobně uzavřeno při 22° C	99,5
Irbít — 3 dny anaerobně uzavřeno při 22° C	100,0
Irbít — kontrola	10,8

Jak je patrné z tabulky III, byl účinek moření u všech zkoušených odrůd velmi dobrý i při pouhém dvoudenním anaerobním uzavření.

Fytotoxická anaerobního moření ovsa byla zjišťována na doplnění studia účinku zkouškami klíčivosti, pozorováním doby vzházení, metání, stavu a hustoty porostu.

Klíčivost a energie klíčení byla zjišťována ve zvláštním pokuse u 8 odrůd po dvouhodinovém předmáčení a anaerobním moření po 2 a 3 dny při 22° C.

Výsledky, uvedené v tabulce IV ukazují, že snížení klíčivosti a energie klíčení proti kontrole je po dvoudenním anaerobním moření jen malé (do 5 %), kdežto po třídním zákroku již značné (až 30 %), a to se značnými odrůdovými rozdíly.

IV. Vliv anaerobního moření na energii klíčení a na klíčivost (předmáčeno 2 hodiny)

Odrůda	2 dny anaerobně uzavřeno při 22° C		3 dny anaerobně uzavřeno při 22° C		Kontrola	
	E	K	E	K	E	K
Český žlutý	73	77	71	72	75	79
Dětenický	87	88	80	83	88	88
Chlumecký žlutý	99	99	69	81	99	99
Irbít	79	85	68	71	84	84
Nalžovský	91	91	90	91	96	97
Radošinský žlutý	91	93	78	82	94	95
Studnický	85	91	83	86	92	94
Táborský	97	97	91	93	96	96

E — energie klíčení, K — klíčivost

Vzcházení a metání bylo po dvoudenním anaerobním uzavření opožděno o 1–2 dny nebo se nelišilo od kontroly, po třídenním anaerobním uzavření o 1–4 dny, podobně celkový stav se jen málo lišil u porostu z osiva mořeného 2 dny od nemořené kontroly, kdežto po třídenním moření byl značně slabší.

Hustota porostu byla snížena u 5 odrůd v průměru o 50 % proti kontrole po třídenním moření, kdežto po dvoudenním moření jen o 10 %, v obou případech se značnými odrůdovými rozdíly.

2. Mechanismus účinku anaerobního moření proti prašné sněti ovesné

Poněvadž existuje několik teorií o mechanismu účinku anaerobního moření, obdobně jako u dlouhodobého máčení u prašné sněti ječmenné, jak bylo uvedeno dříve, založili jsme pokusy s prašnou snětí ovesnou, sledující objasnění mechanismu účinku z několika hledisek, analogických teoriím, uváděným u prašné sněti ječmenné.

Abychom zjistili, zda se uplatňuje dýchání nebo jiný fyziologický proces, probíhající v obilkách během moření, vykonali jsme anaerobní moření s obilkami (oves *Nalžovský*), jejichž klíčivost byla zničena zákrokem horkou vodou; umělá infekce byla provedena po vysušení na původní váhu suspenzí spor ve sterilní vodě. Případný vliv epifytní mikroflóry, která mohla být ošetřením horkou vodou potlačena, jsme se snažili v další variantě nahradit tím, že umělá infekce byla provedena suspenzí spor ve vodě, jež byla získána důkladným omytím klíčivých obilek. U těchto variant a u kontroly s klíčivým osivem bylo provedeno anaerobní moření (2 hod. předmáčeno, 3 dny anaerobně uzavřeno při 22° C) a kontrola účinnosti byla provedena zjišťováním klíčivosti spor na vodném agaru. Poněvadž jsme se domnívali, že lokalizace patogena pod povrchem semene může mít rovněž vliv na účinnost anaerobního zákroku, byla zjišťována zvláště klíčivost spor, lokalizovaných na povrchu obilek a zvláště u spor, lokalizovaných pod pluhou. Výsledky tohoto pokusu jsou uvedeny v tabulce V.

Po umělé infekci vakuovou metodou byl vyklíčen určitý podíl spor na povrchu i pod pluchami obilek, což bylo pravděpodobně ovlivněno pozvolným sušením infikovaného osiva. Anaerobní moření mělo vliv na vyklíčení dalších spor, a to rovněž na povrchu obilek i pod pluchami. K naklíčení pravděpodobně došlo po uzavření předmáčeného osiva dříve než se vytvořily anaerobní podmínky. Spory z mořeného vzorku při zjišťování klíčivosti po 24 hodinách a při další kontrole po 2 dnech neklíčily v žádném případě ani na povrchu obilek, ani pod

V. Klíčivost spor po anaerobním moření I. (2 hodiny předmáčeno, 3 dny anaerobně uzavřeno při 22° C)

Lokalizace spor		Procento vyklíčených spor			
		nemořeno		mořeno	
		při založení klíčivosti	za 24 hodin	při založení klíčivosti	za 24 hodin
Pod pluchou	1.	16,5	46,7	24,0	21,7
	2.	7,5	65,2	22,2	24,5
	3.	10,7	64,2	21,7	19,5
Na povrchu obilek	1.	10,2	60,7	24,0	23,7
	2.	9,0	71,7	20,2	26,7
	3.	9,5	68,2	23,5	26,5

1. — Kontrola. 2. — Osivo neklíčivé, k umělé infekci použito sterilní vody.
3. — Osivo neklíčivé, k umělé infekci použito vody s omytých obilek.

pluchami, množství naklíčených spor se nezměnilo, kdežto spory z nemořeného vzorku měly 24 hodin po založení klíčivosti 3—9krát více naklíčených spor než po moření a docházelo k bohaté tvorbě sporidií.

Poněvadž v předešlém pokuse byl zkoušen vliv anaerobního zákroku při použití sterilní vody, ale osivo nebylo sterilováno, byla tato varianta vyzkoušena v dalším pokuse. Oves Nalžovský, zbavený pluch, byl v Erlenmayerově baňce inkubován v autoklávu při 2 atm. půl hodiny, pak sušen v sušárně při 90° C po 3 hodiny; po vychladnutí byly do téže baňky přidány spory, obilky byly se sporami protřepány a máčeny po 2 hodiny ve sterilní vodě, pak byla voda slita a obilky přesypány do sterilní zkumavky a anaerobně uzavřeny na 3 dny při 22° C. Klíčivost spor, zjištěná v tomto pokuse, je uvedena v tabulce VI.

VI. Klíčivost spor po anaerobním moření sterilovaného osiva

Ošetření osiva	Procento vyklíčených spor			
	předmáčeno 2 hod., nemořeno		předmáčeno 2 hod., anaerobně mořeno 3 dny při 22° C	
	při založení klíčivosti	za 24 hodin	při založení klíčivosti	za 24 hodin
Sterilováno	0,5	14,7	8,2	9
Nesterilováno	0,5	15,2	0,2	0,5

Zárok potlačil klíčivost spor u nesterilovaných klíčivých obilek, u neklíčivých sterilovaných obilek došlo k částečnému vyklíčení spor již během moření. Počet vyklíčených spor se po anaerobním moření nezvýšil, ale v některých případech klíčení pokračovalo a vytvářely se sporidie. To bylo pravděpodobně ovlivněno tím, že po uzavření ve zkumavce nemohl být v krátké době spotřebován kyslík vzhledem k tomu, že obilky byly neklíčivé a sterilované.

VII. Klíčivost spor po anaerobním moření II. (2 hodiny předmáčeno, 3 dny anaerobně uzavřeno při 22° C)

Lokalizace spor		Procento vyklíčených spor			
		nemořeno		mořeno	
		při založení klíčivosti	za 24 hodin	při založení klíčivosti	za 24 hodin
V	Pod pluchou	15,5	25,5	13,5	14,2
	Na povrchu obilek	12,0	26,7	14,5	14,2
I		0	27,0	0	0

V — vakuová infekce. I — infekce protřepáním oloupaných obilek se sporami.

K ověření získaných výsledků, zejména k objasnění případné funkce pluchy při moření, byl založen další pokus, v němž bylo osivo (oves Nalžovský) anaerobně mořeno stejným způsobem jako v předešlém pokuse po předcházející infekci jednak vakuovou metodou, jednak protřepáním oloupaných obilek se sporami, tedy jednak oves s pluchami, jednak po odstranění pluch. U ovesa s pluchami byla zjišťována klíčivost spor na povrchu obilek i pod pluchami; výsledky jsou uvedeny v tabulce VII.

Podobně jako v prvním pokuse, nebyly zjištěny větší rozdíly v klíčivosti spor na povrchu obilek a pod pluchami. U nemořené kontroly, infikované vakuovou metodou, bylo naklíčeno za 24 hodin po založení klíčivosti téměř dvojnásobné množství spor než po infekci. Po infekci protřepáním obilek se suchými sporami k naklíčení spor vlivem infekce přirozeně nedošlo; po 24 hodinách od založení klíčivosti bylo vyklíčeno přibližně stejné množství spor jako u kontroly infikované vakuovou metodou. U mořených vzorků se množství vyklíčených spor po 24 hodinách ani při další kontrole nezměnilo.

Účinek anaerobního moření u ovesa bez pluch byl ještě ověřen malým polním pokusem. Oves kříženec „C“ byl infikován jednak vakuovou metodou, jednak protřepáním oloupaných obilek se sporami, pak byl uzavřen po dvouhodinovém předmáčení anaerobně na 3 dny při 22° C a po usušení na původní váhu vyset, po vymetání bylo zjišťováno napadení snětí. Výsledky, uvedené v tabulce VIII, potvrzují účinnost anaerobního zákroku i u oloupaného ovesa.

VIII. Srovnání účinku anaerobního moření na oves s pluchami a bez pluch

Ošetření	Relativní snížení snětivosti v procentech	
	V	I
Předmáčeno 2 hod., uzavřeno anaerobně 3 dny při 22° C	100,0	90,0
Kontrola (nemořeno) procento napadení	13,3	25,7
Kontrola (máčeno 2 hod.) procento napadení	12,8	15,0

V — vakuová infekce. — I — infikováno protřepáním oloupaných obilek se sporami.

Diskuse

Výsledky pokusů dávají odpověď na obě otázky, které jsme si položili na počátku práce, totiž 1. zda je anaerobní moření účinné i proti prašné sněti ovesné, 2. jaký je pravděpodobný mechanismus účinku tohoto moření u prašné sněti ovesné.

1. Provedené pokusy ukázaly účinnost anaerobního zákroku i proti prašné sněti ovesné. Na rozdíl od prašné sněti ječmenné byla prašná sněť u ovsa potřena již po dvoudenním anaerobním uzavření osiva 2 hodiny předmáčeného při teplotě 22° C, případně za 1 den při 26° C, tedy za poloviční dobu, než je nutná při stejných podmínkách u prašné sněti ječmenné.

Příjem vody po dvouhodinovém předmáčení odpovídal přibližně 30 % původní váhy osiva. Ovlhčení 20 l vody na 1 q osiva (20 % původní váhy osiva) bylo v jednom roce neúčinné, a to i při anaerobním uzavření po 4 dny, v druhém roce vedlo ovlhčení 20 l/q jen k malému snížení účinnosti. Minimální množství vody, nutné k účinku, kolísá u ovsa pravděpodobně v souvislosti s různým podílem pluch u různých odrůd a ročníků.

Účinnost anaerobního zákroku proti prašné sněti ovesné potvrzuje možnost širšího uplatnění této metody proti různým chorobám. Vzhledem k tomu, že proti všem chorobám, proti nimž se toto moření dosud osvědčilo, je účinné termické moření, je možno získané výsledky považovat za potvrzení domněnky o určitém užším vztahu mezi těmito metodami.

I když účelem práce nebylo vypracování nové metody moření proti prašné sněti ovesné, mohou posloužit získané výsledky jako vodítko pro praktické provádění anaerobního moření ovsa, kdyby se toto moření v některých speciálních případech ukázalo výhodným (nepoužívá se žádného chemického přípravku, namořené osivo není jedovaté, skladováním po usušení není ohrožena klíčivost). Před praktickým prováděním by bylo vhodné ověřit tento zákrok na přirozeně infikovaném osivu, i když není pravděpodobné, že by v účinnosti byly rozdíly, poněvadž umělé infekce vakuovou metodou se běžně používá též při zkoušení mořidel a oves kříženec „C“, u něhož byl zákrok úspěšně zkoušen, byl kromě umělé infekce též silně přirozeně napaden snětí.

2. Pokusy sledující případný vliv epifytní mikroflóry, fyziologické činnosti osiva nebo lokalizace zdroje infekce na účinnost ukázaly, že u prašné sněti ovesné působí anaerobní podmínky pravděpodobně přímo na spory. Na vzniku anaerobních podmínek při moření se ovšem podílí dýchání osiva i epifytní mikroflóra. Speciický vliv mikroflóry na účinnost zákroku není pravděpodobný, i když jej na základě provedených pokusů nelze zcela vyloučit.

Toto zjištění se liší od našeho výkladu mechanismu účinku u prašné sněti ječmenné, kde předpokládáme, že se uplatňuje vliv fyziologických procesů v obilkách v souvislosti s anaerobním dýcháním osiva. Rovněž nepotvrdily tyto pokusy vliv pluch na účinnost zákroku. Možnost zevšeobecnění získaných výsledků je však značně omezena tím, že byl sledován vliv zákroku jen na jednu formu zdroje infekce, totiž na spory, kdežto vliv na druhou formu, mycelium, sledován nebyl.

Z hlediska studia mechanismu účinku anaerobního moření proti prašné sněti ječmenné, v jejímž rámci byly tyto pokusy konány, mohou tedy sloužit získané výsledky k potvrzení názoru, že se při anaerobním moření proti různým chorobám může uplatňovat více různých účinných principů; je možné, že i příčiny účinnosti moření u jedné choroby jsou komplexní povahy.

Souhrn

1. V polních pokusech bylo zjištěno, že anaerobní moření, to je uzavření předmáčeného nebo ovlhčeného osiva za anaerobních podmínek, které se osvědčilo proti prašné sněti ječmenné, je účinné proti prašné sněti ovesné. Jako dostatečně účinné se ukázalo dvouhodinové předmáčení ve vodě při 22° C s následujícím dvoudenním anaerobním uzavřením při 22° C nebo jednodenním uzavřením při 26° C.

2. V polních pokusech i podle zkoušek klíčivosti byla zjištěna různá fyto-toxicita zákroku u různých odrůd.

3. Byl sledován mechanismus účinku tohoto zákroku u prašné sněti ovesné podle klíčivosti spor, lokalizovaných na povrchu obilek a pod pluchami, na vodném agaru za různých podmínek. Nebyl zjištěn přímý vliv fyziologických procesů v obilce, epifytní mikroflóry ani lokalizace spor pod pluchami na účinnost zákroku. U prašné sněti ovesné působí na spory pravděpodobně přímo nedostatek kyslíku.

Literatura

1. Arny D. C., Leben C.: Control of several small grain diseases by the water soak seed treatment. *Phytopathology* 46, 344-345, 1956. — 2. Hebert T. T.: A new method of controlling loose smut of barley. *Plant Disease Reporter* 39, 20-22, 1955. — 3. Niemann E.: Kaltwasserquellung und anaerobes Benetzungsverfahren zur Flugbrandbekämpfung bei Weizen. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 10, 26-30, 1958. — 4. Pichler F.: Zur Frage der Flugbrandbekämpfung mittels Einquellung oder Benetzung des Saatgutes. *Ztschr. für Pflanzenkrankheiten (Pflanzenpathologie) und Pflanzenschutz*, 68, 472-475, 1958. — 5. Russel R. C., Tyner L. E.: The influence of temperature on the time required to control loose smut of barley by means of the Spergon or water soak treatments. *Canad. Journal of Agric. Science* 34, 535-538, 1954. — 6. Störmer K.: Über die Methoden zur Bekämpfung der Flugbrandarten. *Fühlings landw. Ztg.* 60:145-147, 1912. — Cit. podle: Gassner G., Kirchhoff H.: Versuche zur Bekämpfung des Gerstenflugbrandes. *Phytopath. Ztschr.* 7:271-284, 1934. — 7. Tyner L. E.: Control of loose smut of barley by chemical and physical treatments. *Sci. Agric.* 31, 187-192, 1951. — 8. Tyner L. E.: The control of loose smut of barley and wheat by Spergon and by soaking in water at room temperature. *Phytopathology* 43, 313-316, 1953. — 9. Zalesskij V.: Metod anaerobioza dlja borby s pylnoj golovněj pšenicy. *Zaščita rastenij* 1, 135-138, 1935. — 10. Zemánek J., Bartoš P.: Nové způsoby moření ječmene proti prašné sněti ječmenné. *Sborník ČSAZV, Rostlinná výroba* 30, 1-12, 1957. — 11. Zemánek J., Bartoš P.: Studium mechanismu účinku dlouhodobého máčení a anaerobního moření ječmene proti prašné sněti ječmenné. *Sborník ČSAZV, Rostlinná výroba* 31, 1247-1260, 1958. — 12. Zillig H.: *Ustilaginales* (Sorauer: *Handbuch der Pflanzenkrankheiten*), Berlin, 1932.

Эффективность анаэробного протравливания против пыльной головки овса

1. В полевых опытах было установлено, что анаэробное протравливание, т. е. содержание предварительно замоченного или увлажненного посевного материала при анаэробных условиях, которое дало хорошие результаты против пыльной головки ячменя, действительно и против пыльной головки овса. Достаточно эффективным оказалось двухчасовое предварительное замачивание в воде при 22° C с последующим двухдневным содержанием в анаэробных условиях при 22° C или однодневным хранением при 26° C.

2. В полевых опытах и согласно опытам со всхожестью была установлена различная фитотоксичность у разных сортов.

3. Наблюдался механизм действия такого способа у пыльной головки овса по всхожести спор, локализованных на поверхности зерновок и под нижней цвет-

ковой чешуей на водном агаре при разных условиях. Не было установлено непосредственного влияния физиологических процессов в зерновке, ни эпифитной микрофлоры, ни локализации спор под нижней цветковой чешуей на эффективность вмешательства. У пыльной головки овса на споры, вероятно, непосредственно влияет недостаток кислорода.

Wirkung der anaeroben Beizung gegen den Haferflugbrand

1. In Feldversuchen wurde festgestellt, daß die anaerobe Beizung, d. h. der Abschluß des vorgequellten oder befeuchteten Saatguts in anaeroben Bedingungen, die sich gegen Gerstenflugbrand bewährte, auch gegen den Haferflugbrand wirksam ist. Als genügend wirksam erwies sich ein zweistündiges Vorquellen in Wasser mit einer Temperatur von 22° C mit darauffolgendem zweitägigem anaeroben Abschluß bei 22° C oder mit eintägigem Abschluß bei 26° C.

2. In Feldversuchen und auch auf Grund von Keimproben wurde eine unterschiedliche Phytotoxizität des Eingriffs bei verschiedenen Sorten festgestellt.

3. Es wurde der Mechanismus der Wirkung dieses Eingriffs auf den Haferflugbrand nach der Keimkraft der Sporen, die auf der Oberfläche des Getreidekornes und unter den Spelzen lokalisiert sind, auf Wasseragar, bei Durchführung der Beizung in verschiedenen Bedingungen untersucht. Es wurde kein direkter Einfluß der physiologischen Prozesse in dem Getreidekorn, der Epiphyten-Mikroflora, der Lokalisierung der Sporen unter den Spelzen auf die Wirksamkeit des Eingriffs ermittelt. Beim Haferflugbrand wirkt auf die Sporen wahrscheinlich direkt der Sauerstoffmangel ein.

Efficacy of Anaerobic Treatment Against the Loose Smut of Oats

1. By the anaerobic treatment, i. e. by the exposure of the presoaked or moistened seed to anaerobic conditions, which is effective against the loose smut of barley, good control of the loose smut of oats in field experiments was obtained, as well. Satisfactory results were received when seed was presoaked for 2 hours and then shut in the air-tight vessels for 2 days at the temperature of 22° C, or for 1 day at the temperature of 26° C.

2. The phytotoxicity of the anaerobic treatment varied with different varieties of oats.

3. The mechanism of the effect of the anaerobic treatment against the loose smut of oats was studied by finding out of the viability of the chlamydospores, localised on the seed-surface and under the seed-hulls, after various modifications of the anaerobic treatment. According to the results of our experiments, physiological activity of the seed, microorganisms on the seed-surface, and localisation of the chlamydospores on the seed-hulls or under them had no direct influence upon the efficacy of the treatment against the loose smut of oats. The efficacy of the anaerobic treatment depends probably on the direct influence of the lack of oxygen upon the chlamydospores.

Použití fytoncidů česneku k moření semen fazole proti anthraknóze způsobené houbou *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. a proti skvrnitosti vyvolávané bakterií *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Smith) Dowson

Применение фитонцидов чеснока для протравливания семян фасоли против антракноза, вызываемого грибом *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. и против пятнистости, вызываемой бактерией *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Smith) Dowson

Die Verwendung der Phytonzide des Knoblauchs zum Beizen von Bohnensamen gegen die durch den Pilz *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. verursachte Anthraknose und gegen den durch das Bakterium *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Smith) Dowson hervorgerufenen Bohnenbrand

Utilization of the Phytoncides of Garlic to Treat Bean Seed for Anthracnose Caused by Fungus and for Spot Disease Caused by the Bacteria *Xanthomonas Phaseoli* (E. F. Smith) Dowson

I. UJEVIČ, M. STANĚK*)

Výzkumný ústav rostlinné výroby ČSAZV, Ruzyně

Došlo dne 15. XI. 1958

Nejnebezpečnější chorobou fazole v Československu je anthraknóza, jejíž původcem je houba *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. Popis choroby i biologie parazita jsou uvedeny v jedné z předchozích prací (Ujevič, 1957). K anthraknóze se často přidružují bakteriové skvrnitosti, které jsou vyvolávány fytopatogenními bakteriemi *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Smith) Dowson, *Pseudomonas phaseolicola* (Burkholder) Dowson a případně *Pseudomonas viridiflava* (Burkholder) Clara. V okolí Prahy jsme pozorovali v posledních letech nejčastěji z bakteriových onemocnění fazolů skvrnitost, která je způsobena druhem *Xanthomonas phaseoli*. Symptomy choroby a vlastnosti jejího původce jsou podrobněji popsány v dílech Izraelského a spol., 1953 a Stappa, 1956. *Xanthomonas phaseoli* vytváří na listech fazolů velké skvrny, které jsou zpočátku vodnaté a transparentní, později žloutnou, červenají nebo hnědou a kolem nich se vytváří žlutozelená zóna (obr. č. 1). Na luscích vznikají malé, oválné, sytě zelené skvrny, jež se postupně zvětšují, hnědnou a bývají často červenavě lemovány (obr. č. 2). Za vlhkého počasí se vytváří na skvrnách bakteriový hlenovitý exudát. Skvrny na semenech nebývají tak tmavé jako u anthraknózy a mnohdy nejsou pevně ohraničené. Na bílých semenech mají žlutou až okrovou

*) Za technické spolupráce Z. Beckové a M. Přesličky.

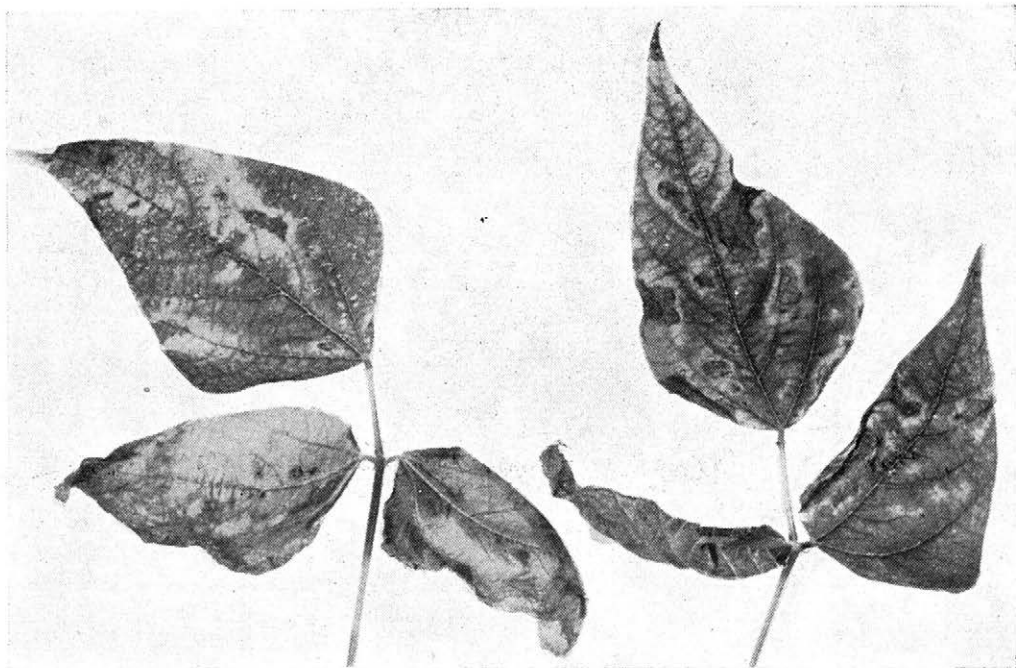
barvu. Při silnějším napadení proniká bakterie hluboko do nitra semen a při infekci v raném údobí tvorby semen mohou být semena zcela zničena.

V posledních letech se u nás oba typy chorob fazolů — anthraknóza i bakteriózy — značně rozšířily a proto bylo třeba studovat nové možnosti účinné ochrany proti nim. Nejčastějším zdrojem infekce u obou druhů onemocnění jsou infikovaná semena. Ujevič (1957) vypracoval metodu termického ošetření semen, která se osvědčila při potírání anthraknózy. Semena předmáčená 15 hodin ve vodovodní vodě při teplotě 18–22° C se ponoří na 25 minut do vody zahřáté na 46–48° C. Jistou nevýhodou tohoto způsobu ošetření semen jsou nesnáze při udržování náležité teploty vody bez speciálního zařízení. Proto bylo třeba zkoumat další způsoby ochrany, které by bylo možné aplikovat i v případech, kdy termické ošetření nelze provádět. Ložiska parazitů fazole jsou však uložena hluboko pod povrchem semen (obr. č. 3) a proto nelze využít běžných chemických mořidel, která jsou buď nedostatečně účinná nebo příliš fytotoxická.

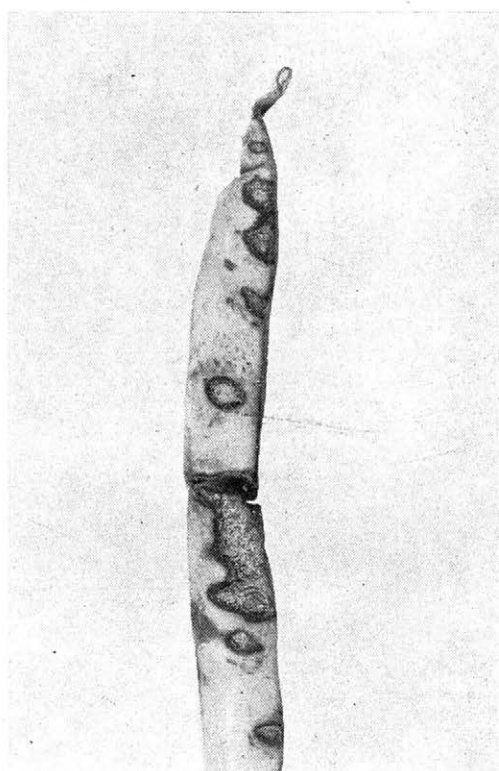
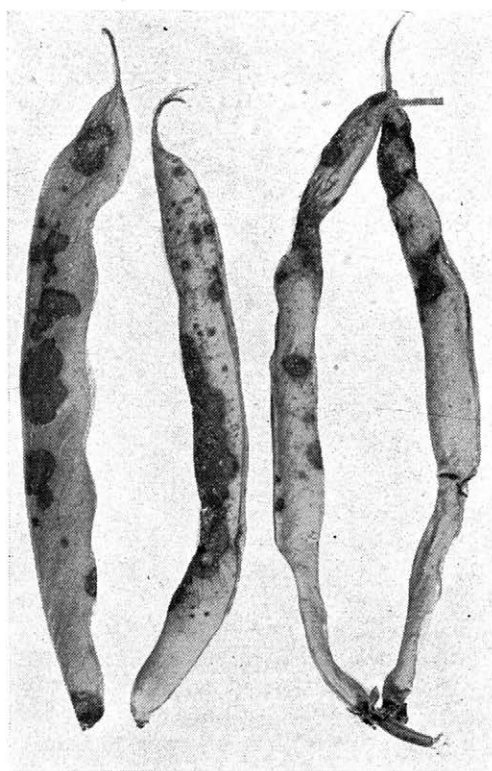
Sovětským autorům se podařilo prokázat, že fytoncidy česneku, objevené Tokinem v letech 1928–30 (viz Tokin, 1950) působí neobyčejně toxicky na některé druhy fytopatogenních mikrobů. Nejvíce byl sledován jejich účinek na fytopatogenní bakterie (Charkinová, 1951, Chetagurová, 1952, Gorklenko, 1957, Beltjukovová, 1957 aj.). Méně pozornosti bylo prozatím věnováno studiu působení fytoncidů na choroboplodné houby (Lipencová, 1946, Korotkovová, 1950, Dorožkin, Sapegovová, 1955). Z praktických způsobů ošetření rostlin fytoncidy bylo nejvíce zkoumáno moření semen. Lipencová (1950) dosáhla dobrých výsledků s mořením semen zelí, fytoncidy česneku proti *Xanthomonas campestris* a o jejich účincích proti *Phoma lingam* podala příznivé zprávy Burychinová, 1950. Korotkovové (1950) se podařilo čtyřhodinovým mořením semen hrachu v 200 ml vody s 2 g česneku snížit napadení hrachu anthraknózou na 20–70 %. Tento způsob prověřoval u nás v laboratorních podmínkách Janyška roku 1957, avšak bez velkého úspěchu. Chetagurová roku 1952 zjistila, že fytoncidy česneku působí značně intenzivně na *Xanthomonas phaseoli* a že chrání listy fazole před onemocněním, vyvolaným tímto parazitem. Naše předběžné zkoušky s česnekovou kaší, použitou in vitro proti *Colletotrichum lindemuthianum*, měly rovněž pozitivní výsledky (Ujevič, 1957). Proto možnost využití fytoncidů česneku k moření semen fazole proti nejnebezpečnější mykóze i bakterióze se jevila zcela reálnou a v letech 1957–1958 jsme se snažili ji podložit výsledky experimentální práce.

Materiál, metoda

Účinky fytoncidů česneku (ve všech pokusech jsme používali česneku odrůdy Maco) na původce našich nejběžnějších chorob fazole jsme stanovovali in vitro běžnými metodami na agarových plátnách. Jejich působení na *Xanthomonas phaseoli* jsme prověřovali na plotnách masopeptonového agaru o průměru 10 cm (25 ml agaru), překrytých tenkou vrstvou (5 ml) 1.5 % agaru obsahujícího suspenzi buněk kmene, který byl vyizolován z typických bakteriových skvrn na luskách odrůdy Zlatý roh. Horní vrstva agaru obsahovala při založení pokusu asi 10 miliónů buněk v 1 ml. Do agaru byly ponořeny skleněné válečky s vnitřním průměrem 6 mm a do nich byla v jednotlivých variantách pokusu vpravena kaše z čerstvě rozetřených stroužků česneku a kaše, která byla zředěna vodou v poměru 10:1 a 20:1. Čtvrtý váleček byl naplněn vodou. Každá varianta pokusu byla

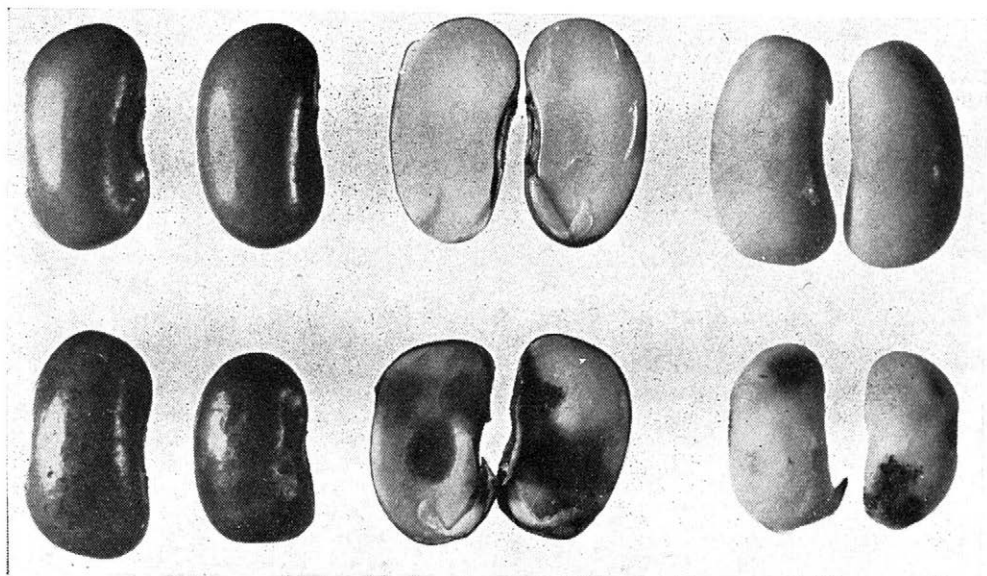


1.: Listy fazolů napadené bakterií *Xanthomonas phaseoli*

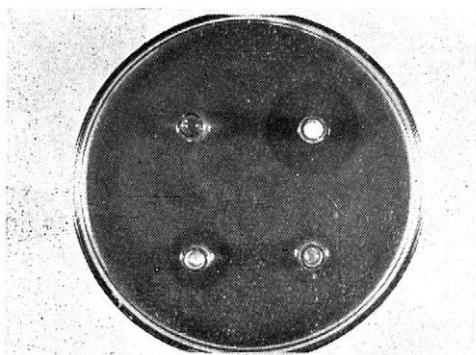


2 a): Lusky fazolů napadené bakterií *Xanthomonas phaseoli*

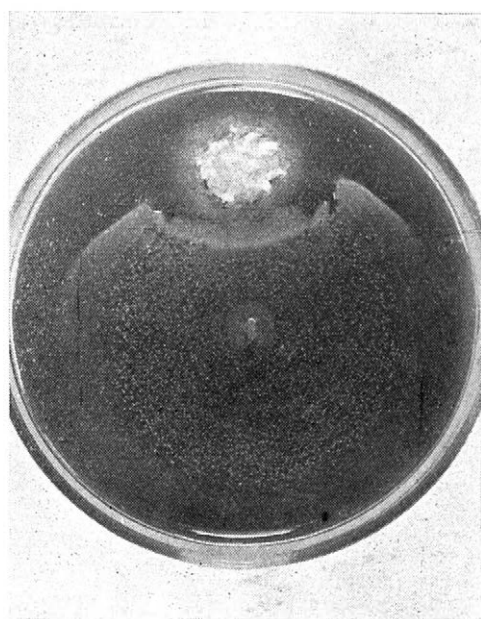
2 b): Lusky fazolů napadené anthraknosou



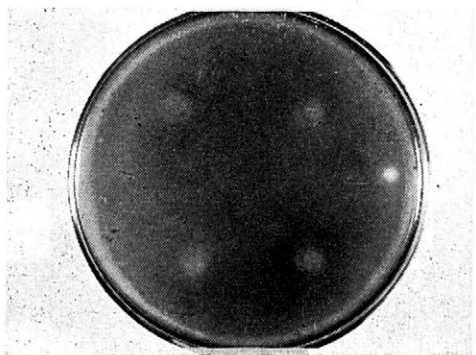
3.: Semena fazole Zlatý roh napadená houbou *Colletotrichum lindemuthianum* (nahore semena zdravá, dole napadená)



5.: Účinek fytoncidů česneku na bakterii *Xanthomonas phaseoli* *in vitro* (dole vlevo: rozetřená česneková kaše, nahore: kaše zředěná v poměru 1 : 10 a 1 : 20)

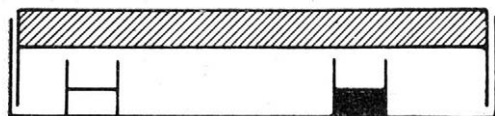


7.: Inhibice růstu mycelia houby *Colletotrichum lindemuthianum* v okolí rozetřené česnekové kaše



6.: Účinek plynné formy fytoncidů česneku na bakterii *Xanthomonas phaseoli*. (Nad rozetřenou česnekovou kaší se tvoří inhibiční zóna)

opakována šestkrát. Účinek plynů unikajících z česnekové kaše jsme zkoušeli v Petriho miskách, obrácených spodní miskou nahoru. Na víčko misky jsme přilepili skleněné válečky parafinem tak, aby jejich horní okraj byl vzdálen od povrchu plotny 1 mm (viz obr. č. 4). Naočkované plotny jsme inkubovali 24 hod. v termostatu při teplotě 25° C a potom proměřovali průměr inhibičních zón.



4.: Metoda stanovení účinků plynné formy fytoncidů in vitro

Vlastnosti izolovaného kmene *Xanthomonas phaseoli* jsme prověřovali tinkčními i kultivačními testy a jeho patogenitu jsme zjišťovali umělou infekcí mladých rostlin fazole Zlatý roh, uložených do vlhké komůrky. Je to pohyblivá gramnegativní tyčka 0,3 — 0,8 × 0,5 —

— 3 μ velká se zakulacenými konci a pohybující se pomocí jednoho bičíku. Na masopeptonovém agaru tvoří hladké lesklé kolonie s rovným okrajem, které postupně žloutnou. Na masopeptonovém bujónu vytváří slabý zákal a na povrchu bezbarvý, později žloutnoucí kroužek. Kůžička a sediment bujónu se tvoří až později. Po vpichu ztekucuje želatinu nejdříve ve formě nálevky (3—4 den při teplotě 22° C), později se ztekucuje celý želatinový sloupec. *Xanthomonas phaseoli* sráží mléko, alkalizuje je a později peptonizuje. Tvoří sirovodík i čpavek, neredukuje nitráty a netvoří indol. V živných roztocích s uhlohydráty vytváří kyseliny a netvoří plyn. Značné množství kyselin vytváří na půdách s glukózou, galaktózou, sacharózou, maltózou, xylózou, méně intenzivně zkvašuje laktózu a glycerin. Na rozdíl od některých literárních údajů zkvašuje námi izolovaný kmen i manit. Bakterie hydrolyzuje škrob a její růst je velmi bujný na bramborových a zvláště na mrkvových řízcích. Velmi dobře roste na Uschinského živné půdě, slaběji na Cohnově a Fermisově.

Izolát houby *Colletotrichum lindemuthianum* jsme získali rovněž z napadených semen odrůdy Zlatý roh. Pěstovali jsme jej na živné půdě, která obsahovala v 1000 ml destilované vody 20 g agaru, 2,8 g glukózy, 2 g peptonu, 1,24 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ a 2,27 g KH_2PO_4 . (pH 5,1). V umělých kulturách byla houba vždy po izolaci provázena jedním bakteriovým druhem, který tvořil na masopeptonovém agaru malé, lesklé bezbarvé kolonie. (Není vyloučen symbiotický vztah mezi oběma druhy.) Ve vzdálenosti 1 a 2 cm od okraje narostlé kolonie *Colletotrichum lindemuthianum* (o průměru 4 cm) jsme položili hrudky kaše nebo ji uložili do skleněných válečků a pozorovali, zda v okolí válečku nedochází k inhibici růstu.

Účinek plynů unikajících z česnekové kaše jsme sledovali obdobným způsobem jako u bakterií. Nad skleněné válečky s česnekovou kaší jsme přiložili na obrácenou plotnu živného agaru bloky mycelia houby a pozorovali jeho růst. Působení česnekových šťáv na klíčení konidií *Colletotrichum lindemuthianum* jsme stanovovali pomocí metody visuté kapky. Malou kapku suspenze konidií, získanou smytím povrchu kultury houby sterilní sladinkou, jsme nanášeli na krycí sklíčko, které jsme přilepili vazelinou na podložní sklíčko s jamkou. Na dno jamky jsme uložili nepatrnou částici česnekové kaše a v následujících dnech jsme pozorovali, jak působí plyny na klíčení. V jiné modifikaci pokusu jsme vnášeli konidie přímo do česnekové kaše zředěné sterilovanou sladinkou v poměru 100 : 10, 100 : 5, 100 : 2,5, 100 : 1,25. Kontrolní konidie klíčily ve visuté kapce sterilované sladinky. Konidie ve všech pokusných variantách jsme inkubovali při 25° C a jejich klíčení jsme kontrolovali denně počítáním procenta vyklíčených spor.

Možnost uplatnění fytoncidů česneku při moření semen fazole jsme před-

běžně studovali ve dvou orientačních nádobových pokusech. První z nich jsme založili dne 3. I. 1957. Anthraknózou napadená semena odrůdy fazole Zlatý roh (Ruzyně, 1954) jsme máčeli při pokojové teplotě 24 a 48 hodin ve 100 ml vody s 0, 1, 5, 10, 20 a 30 g česnekové kaše. Dvacet semen z každé pokusné varianty jsme vyseli do vegetačních nádob s polní půdou a během následujícího měsíce jsme zjišťovali počet vzešlých rostlin, jejich výšku a zdravotní stav. V dalším pokusu jsme pracovali s méně napadenými semeny odrůdy Zlatý roh a roztrídili jsme je na dvě skupiny: 1. semena bez zjevných příznaků onemocnění, 2. semena zjevně přirozeně napadená. Oba vzorky semen jsme máčeli 48 hod. odděleně ve 100 ml vody s 0, 1, 2, 4 a 8 g česnekové kaše a dne 27. II. jsme je seli do vegetačních nádob.

V polních pokusech roku 1957—1958 jsme používali semene fazole Zlatý roh, jejíž lusky byly značně napadeny anthraknózou a bakteriózami. Do každé varianty pokusu bylo použito 20 % semen viditelně přirozeně napadených tmavohnědými skvrnami.

V roce 1957 jsme uspořádali polní pokus na malých parcelkách (4 m²), na které bylo zaseto ve sponu 20×20 cm 100 semen odrůdy Zlatý roh (Ruzyně, 1954), která byla bezprostředně před zasetím máčena 48 hod. ve zředěné česnekové kaši. Zkoušeli jsme dvě varianty: V jedné byla česneková kaše zředěna vodou v poměru 1 : 50, v druhé v poměru 1 : 25. V kontrolních variantách pokusu byla vyseta semena máčená 48 hod. ve vodě a semena nemáčená. Každá varianta pokusu byla opakována pětkrát. Parcely jednotlivých variant nebyly od sebe příliš vzdáleny. V době výsevu (14. VI. 1957) byla půda velmi suchá a průměrná denní teplota byla vyšší než 25° C. Vzházení rostlin jsme kontrolovali 4. VII., tj. 20. den po zasetí, sklizeň lusků a hodnocení zdravotního stavu rostlin jsme konali 20. VIII. Stanovili jsme průměrnou váhu zelené hmoty rostlin, průměrnou váhu lusků zdravých a lusků napadených anthraknosou a bakteriózou.

Druhý polní pokus jsme založili 21. V. 1958. Semena odrůdy Zlatý roh jsme máčeli 48 hod. v česnekové kaši zředěné vodou v poměru 3 : 100, 4 : 100, 5 : 100, 6 : 100 a společně se semeny máčenými 48 hod. ve vodě jsme je vyseli do vlhké půdy. Každou variantu pokusu jsme opakovali šestkrát a v každém opakování jsme seli 100 semen. Jednotlivé parcelky měly stejné rozměry jako v minulém roce. V tomto pokusu bylo dbáno na prostorovou izolaci jednotlivých pokusných variant. Parcely byly od sebe vzdáleny 25 m a odděleny porostem ječmene. Vzházení rostlin jsme kontrolovali 8., 13., 23. a 30. den po zasetí (29. V.—19. VI.) a výskyt chorob jsme sledovali během vegetace 24. VII., 5. VIII. a 20. VIII. Dne 25. VIII. jsme zrušili v každé pokusné variantě jedno opakování a stanovili jsme průměrnou váhu zelené hmoty jedné rostliny a průměrnou váhu zdravých a napadených lusků. Konečné hodnocení pokusu jsme provedli 9. IX. Sklizená semena byla vyloupána, stanovena jejich celková váha a váha semen zdravých a napadených.

V doplňujících orientačních zkouškách jsme se pokusili stanovit toleranci semen různých vzorků jednotlivých odrůd fazole k účinkům česnekové kaše zředěné vodou v poměru 1 : 100—5 : 100. Semena odrůd Zlatý roh, Olomoucká zelnoluska plochá, Moravská perla, Slavia, Podřipská, Saxa, Petrovské tyčkové a Kvalita (Ruzyně, 1956, inž. B a r e š) byla po 48hodinovém namočení vyseta do vegetačních nádob s polní půdou a v následujících dnech bylo sledováno vzházení, růst a zdravotní stav rostlin. Orientační pokus byl dvakrát opakován, odrůdy byly rozděleny do 4 skupin (1. tolerantní: nižší dávky stimulovaly vzházení, vyšší je inhibovaly jen nepatrně, 2. méně tolerantní: vyšší dávky působily více toxicky než u předešlé skupiny, 3. citlivé: již nižší dávky nepatrně inhibovaly vzházení,

4. značně citlivé: i při nízkých dávkách docházelo ke značné inhibici vzcházení) a při konečném hodnocení byl stanoven bodový průměr z obou pokusů. Podobným způsobem byly hodnoceny výsledky orientačních zkoušek účinků fytoncidů na klíčení semen na vlhkém filtračním papíru.

V ý s l e d k y

V pokusech in vitro jsme si ověřili, že původce bakteriové skvrnitosti fazole *Xanthomonas phaseoli* (Smith) Dowson je velmi citlivý na přítomnost fytoncidů v prostředí. Na agarových plotnách se vytvářely v okolí skleněných válečků vyplněných česnekovou kaší inhibiční zóny o průměru 25,2 mm. Zóny v okolí válečků se zředěnou kaší byly úměrně menší (tabulka I, obr. č. 5). Plyny unikající z roze-

I. Působení fytoncidů česneku na *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Smith) Dowson a na *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et. Magn.) Bri. et Cav. (Výsledky plotnových testů)

Ukazatel	Účinek fytoncidů difundujících do agaru		Účinek plynů	
	<i>Xanth. phaseoli</i> Ø (inhibiční zóny v mm)	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i> (růst)	<i>Xanth. phaseoli</i> Ø (inhibiční zóny v mm)	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i> (růst)
Rozetřený česnek	25,2	—	19,5	—
10 g česneku v 100 ml vody	18,2	(±)	0	+
5 g česneku v 100 ml vody	12,0	(±)	0	+

třeného česneku působily na zkoumaný druh bakterií rovněž velmi toxicky (obr. č. 6). Při teplotě 25° C se z kaše zředěné vodou v poměru 1 : 10 a 1 : 20 plyny zřejmě neuvolňovaly a proto výsledky testů byly v těchto modifikacích pokusu negativní.

Působení fytoncidů česneku na houbu *Colletotrichum lindemuthianum* bylo obdobné. V okolí bloků česnekové kaše houba nerostla (obr. č. 7) a v okolí válečků se zředěnou kaší byl růst houby nepatrně inhibován. Nad válečky připevněnými na spodním víčku misky rostlo mycelium jen v případech, kdy byly válečky naplněny vodou nebo zředěnou kaší. Mycelium uložené nad válečkem s nezředěnou kaší rychle odumíralo a hnědlo. Klíčení konidií houby *Colletotrichum lindemuthianum* bylo rovněž působením česneku velmi silně ovlivňováno. Zatímco v kontrolní variantě vyklíčilo 3. den 15 % konidií, v česnekové kaši zředěné sladinkou v poměru 1,25 : 100 ke klíčení nedošlo a po použití vyšších dávek byly konidie silně poškozeny.

Vlastní vegetační pokusy s použitím fytoncidů česneku k moření semen fazolů jsme zahájili na začátku roku 1957, kdy jsme zaseli semena máčená 24 a 48 hodin v česnekové kaši, zředěné vodou v poměru 1 : 100—30 : 100. Výsledky prvního orientačního pokusu jsou shrnuty v tabulce II. Energie vzcházení byla více snížena u rostlin, jejichž semena byla máčena 48 hod. než u rostlin se semeny máčenými 24 hod. Přítomnost česnekové kaše ve vodě působila ve všech variantách pokusu na energii vzcházení nepříznivě. Konečný počet vzešlých rostlin byl však po použití nejnižší dávky (1 g česneku v 100 ml vody) vyšší než v kontrole a celková vzcháživost rostlin byla inhibována až při vyšších dávkách.

II. První orientační nádobový pokus: Ošetření semen fazole Zlatý roh česnekem namočením do 100 ml vody 20° C teplé s 1, 5, 10, 20 a 30 g česneku na 24 a 48 hodin.
(31. I. do nádob zaseto 20 semen)

Ukazatel	Dny po zasetí	Semena máčená 24 hodin ve 100 ml vody s česnekem v dávce (g)						Semena máčená 48 hodin ve 100 ml vody s česnekem v dávce (g)					
		0	1	5	10	20	30	0	1	5	10	20	30
Počet vzešlých rostlin	4.	10	6	10	4	0	0	2	1	1	1	0	0
	5.	14	14	11	6	0	0	7	8	3	3	0	0
	6.	15	16	12	8	0	0	8	10	6	7	0	0
	7.	16	16	13	9	0	0	15	15	10	10	0	0
	8.	16	17	13	10	0	0	17	17	12	10	0	0
	9.	16	17	13	10	0	0	18	19	12	10	0	0
Průměrná výška rostlin	9.	26,0	22,2	21,0	15,3	—	—	13,0	14,2	12,0	12,0	—	—
	15.	29,7	31,0	29,4	25,8	—	—	24,9	27,7	27,7	25,0	—	—
	25.	41,0	43,5	46,0	33,6	—	—	36,5	41,5	41,2	40,7	—	—
Počet rostlin napadených anthraknózou	15.	3	1	1	1	—	—	2	1	0	0	—	—
	20.	4	2	2	4	—	—	4	1	0	0	—	—
	25.	6	2	2	4	—	—	6	1	0	0	—	—
	36.	16	3	4	4	—	—	18	1	0	0	—	—

(Po použití 20 a 30 g česneku v 100 ml vody nevzešla již ani jedna rostlina.) Růst rostlin, které byly ošetřeny nižšími dávkami česneku, byl zpočátku zbrzděn, později byly však rostliny vyšší a statnější než v kontrole. V kontrolních pokusech se vyskytla anthraknóza fazole na všech rostlinách a u rostlin máčených ve zředěné česnekové kaši 24 hod. byl její výskyt omezen. Mnohem lepších výsledků jsme dosáhli po namočení semen do zředěné česnekové kaše na 48 hodin. Choroba se objevila jen ojediněle po použití nejnižší dávky.

Z výsledků prvního orientačního pokusu jsme učinili závěr, že pro potlačení anthraknózy fazole je vhodnější dlouhodobé máčení semen. V následujícím pokusu jsme proto mořili semena 48 hodin v řadě zředění kaše v poměru 1 : 100 až 8 : 100. Vybraná zdravá semena dobře klíčila a vzházení rostlin nebylo přidáním česneku do vody podstatně narušeno. Kaše zředěná vodou 1—2 : 100 dokonce stimulovala energii vzházení i vzházivost. Rostliny z částečně infikovaných semen vzházely o něco hůře a inhibice energie vzházení vlivem česneku byla patrnější. Účinek fytoncidů česneku na parazity v semenech byl zřejmý pouze v pokusech s napadenými semeny. V nádobách, do kterých byla seta zdravá semena, se totiž choroba nevyskytla. V kontrolní variantě pokusů s přirozeně napadenými semeny bylo zjištěno napadení asi jedné třetiny rostlin. Po použití nižších dávek česnekové kaše (1 : 100, 2 : 100) bylo napadení menší a pomocí vyšších dávek se podařilo choroby zcela vymýtit (tabulka III).

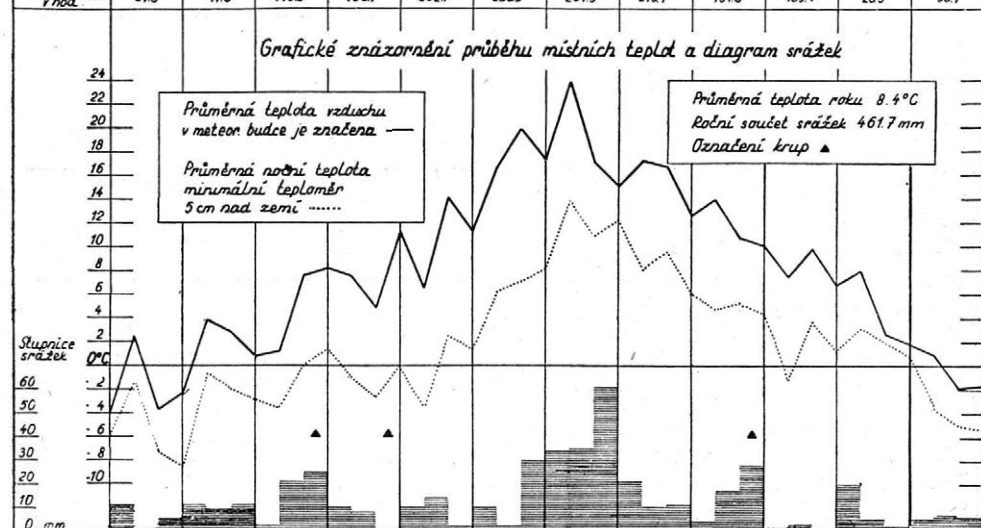
Před založením polního pokusu v roce 1957 bylo zřejmé, že dávka 2 g česneku ve 100 ml vody omezuje výskyt chorob fazolů a dokonalou ochranu poskytuje dávka 4 g česnekové kaše v 100 ml vody.

Pro polní pokus jsme tedy máčeli semena odrůdy Zlatý roh ve vodě s česnekem v poměru 100 : 2 a 100 : 4. V době zakládání pokusu panovalo extrémní sucho (viz graf č. 1) a rostliny vzházely velmi pomalu. Mnohem více trpěly suchem při vzházení rostliny, jejichž semena byla máčena 48 hod. Ze suchých semen vzešlo 76,3 % rostlin, ze semen máčených ve vodě 49,3 %. Rostliny, které

III. Druhý orientační pokus: Ošetření zdravých a přirozeně infikovaných semen fazole Zlatý roh namočením do 100 ml vody 20° C teplé s 1, 2, 4 a 8 g česneku na 48 hodin. (27. II. zaseto do nádob 20 semen)

Ukazatel	Dny po zasetí	Dávka česneku v g									
		semena neinfikovaná					semena infikovaná				
		0	1	2	4	8	0	1	2	4	8
Počet vzešlých rostlin	6.	9	12	14	5	1	10	8	9	4	1
	7.	15	15	19	12	12	13	12	14	9	9
	8.	17	20	19	13	15	13	14	15	11	9
	9.	17	20	19	14	17	14	15	15	11	12
	12.	18	20	19	14	17	14	16	15	11	12
Počet rostlin napadených anthraknosou	9.						0	0	0	0	0
	16.						4	0	0	0	0
	29.						7	4	1	0	0

1957	Leden	Únor	Březen	Duben	Květen	Červen	Červenec	Srpen	Září	Říjen	Listopad	Prosinec
Max. teplota měsíce	10.0	13.6	18.3	24.2	25.8	31.5	36.7	27.5	27.8	21.5	15.1	9.1
Prům. teplota měsíce	-1.1	2.6	5.5	7.9	10.6	17.9	18.5	15.4	11.6	8.0	4.2	0.9
Min. teplota měsíce	-15.5	-5.0	-8.0	-3.9	-2.7	5.3	8.7	4.7	1.0	-3.1	-9.1	-13.8
Srážky v mm	17.2	32.1	49.6	18.9	26.4	42.1	131.5	42.3	49.2	4.4	29.2	18.8
Sluneční svit v hod.	69.5	47.6	140.6	196.7	257.7	286.9	204.3	213.1	134.6	109.4	28.9	30.1



Graf č. 1

byly ošetřeny česnekem, vzházely o něco lépe než kontrolní rostliny, jejichž semena byla máčena ve vodě, avšak i jejich vzházivost byla značně snížena (tabulka IV).

Množství sklizené zelené hmoty rostlin z jednotlivých pokusných variant bylo nepřímě úměrně stupni napadení porostu chorobami. Rozdíl ve zdravotním stavu porostu byl patrný na první pohled (obr. č. 8). Kontrolní rostliny byly stoprocentně napadeny anthraknosou i bakteriózami a proto váha zelené hmoty byla nepatrná. (Na parcelách, na kterých byla seta semena vhlčená vodou 48 hod.,

IV. Výsledky polního pokusu z roku 1957 (pět opakování po 100 semenech)

Ukazatel	Vzcházení: 20. den (4. VII.)			Sklizeň lusků 67. den (20. VIII.)							Zdravotní stav sklizených lusků			
	procento vzešlých rostlin	%	%	průměr- ný počet rostlin na 1 par- cele v době sklizně	průměrná váha zele- né hmoty rostlin sklizených z 1 parcely (kg)	průměrná váha sklizených lusků z parcely			průměr- ná váha lusků na 1 rostlině (g)	výnos zelených lusků (q/ha)	lusky zdravé (kg)	lusky na- padené <i>Col. lind.</i>		lusky na- padené bakte- riemi (kg)
						(kg)	%(K1 =	%(K2 =				slabě	silně	
Kontrola 1: suchá semena	76,3	100,0	—	70,6	1,39	0,59	100,0	—	8,4	14,75	0	0,21	0,38	0,23
Kontrola 2: semena máčená 48 hod. ve vodě	49,3	65,9	100,0	47,0	2,33	1,18	200,0	100,0	25,1	29,5	0	0,78	0,40	0,36
Semena máčená 48 hod. ve vodě s rozetřeným čes- nekem (100 ml vody — 2 g)	54,6	71,4	110,7	51,0	3,25	1,51	255,9	128,0	29,6	37,75	0	1,12	0,39	0,53
Semena máčená 48 hod. ve vodě s rozetřeným čes- nekem (100 ml vody — 4 g)	50,2	65,8	101,8	45,6	4,32	2,17	367,8	184,0	48,1	54,25	1,96	0,10	0,11	0,9

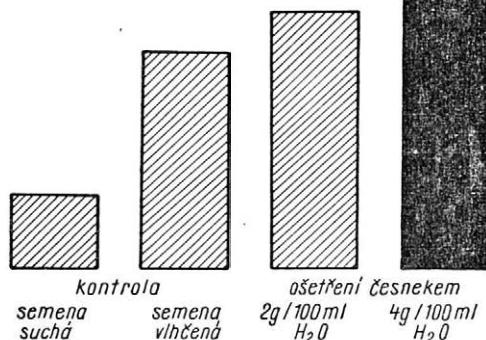
bylo napadení menší než u kontrol se suchými semeny a váha zelené hmoty byla proto vyšší.) Rostliny ošetřené česnekem v dávce 4 g/100 ml byly napadeny jen nepatrně, byly normálně vzrostlé a měly mnohem větší počet lusků. Na parcelách této pokusné varianty jsme sklídili 3,67krát více lusků (tj. 23 q/ha) než na parcelách, na kterých byla seta suchá semena, a 1,84krát více než na kontrole s vlhčenými semeny. Průměrné váhy sklizených lusků z jedné rostliny ve všech variantách pokusu jsou znázorněny na grafu č. 2.

Poškození lusků chorobami bylo největší v kontrole se suchými semeny, menší v kontrolní variantě pokusu se semeny máčenými ve vodě a po použití dávky 2 g česneku ve 100 ml vody se vyskytovaly většinou na luscích jen ojedinelé skvrny. Ve všech těchto variantách však byly napadeny všechny sklizené lusky. Po zdařilém zásahu dávkou 4 g česneku/100 ml vody bylo napadeno pouze necelých 8 % lusků (obr. č. 9).

Polní pokus s máčením semen fazole odrůdy Zlatý roh jsme opakovali v roce 1958, kdy jsme srovnávali v polních podmínkách účinnost řady zředění česnekové kaše ve vodě v poměru 3 : 100 až 6 : 100. V kontrolním pokusu byla semena máčena ve vodě 48 hodin. Semena byla seta za příznivých podmínek do vlhké půdy a rostliny vzcházely mnohem lépe než roku 1957. Po počátečním zdržení vzešlo ze semen máčených v česnekové kaši zředěné vodou v poměru 3 : 100 více rostlin než v kontrole a po použití dávky 4 g česneku v 100 ml vody stejné množství. Vzcházivost rostlin ošetřených vyššími dávkami byla však snížena (graf č. 3, tabulka V).

/// napadené lusky,

■ zdravé lusky

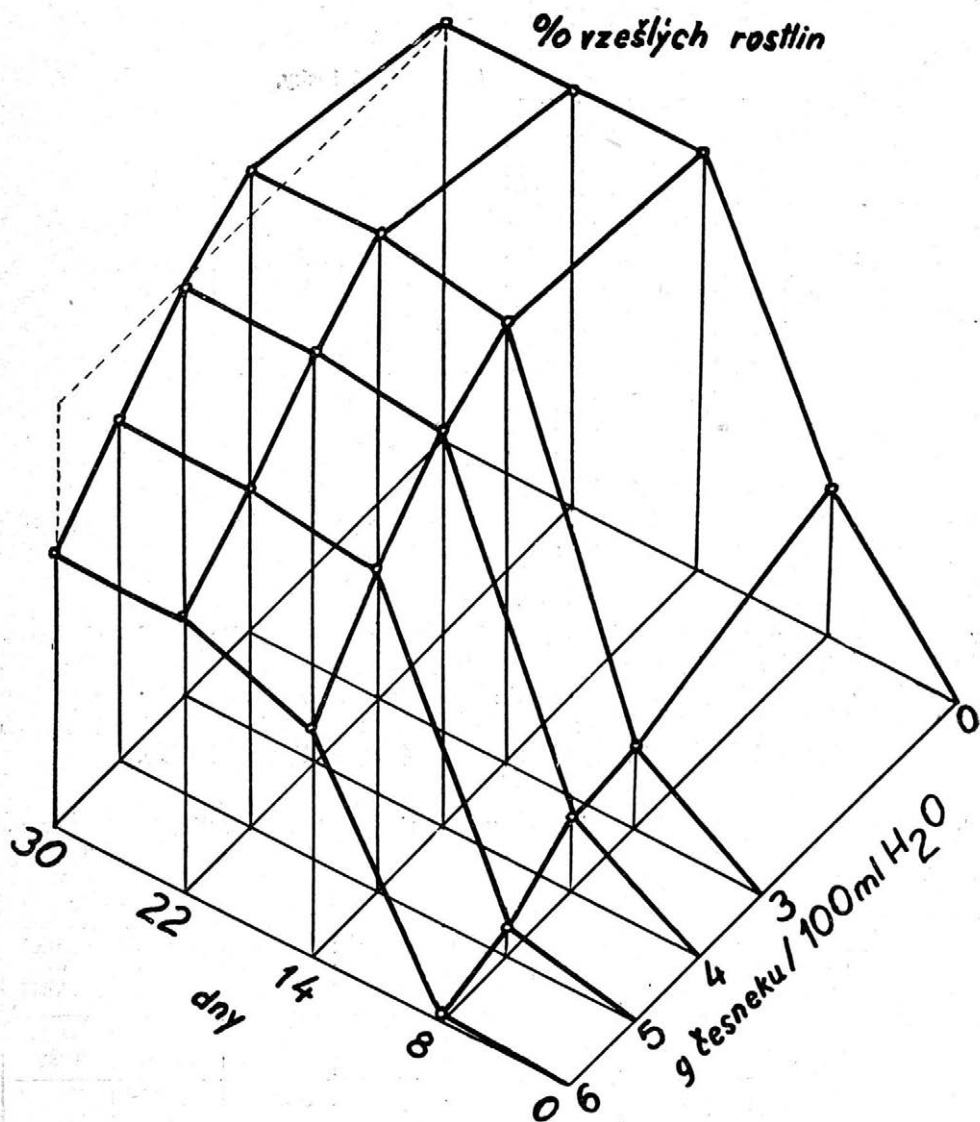


Graf č. 2.: Průměrná váha lusků na jedné rostlině ve čtyřech variantách polního pokusu, založeného roku 1957

V. Polní pokus provedený roku 1958: Vzcházení a zdravotní stav rostlin, jejichž semena byla máčena 48 hodin ve vodě s různým množstvím rozetřeného česneku

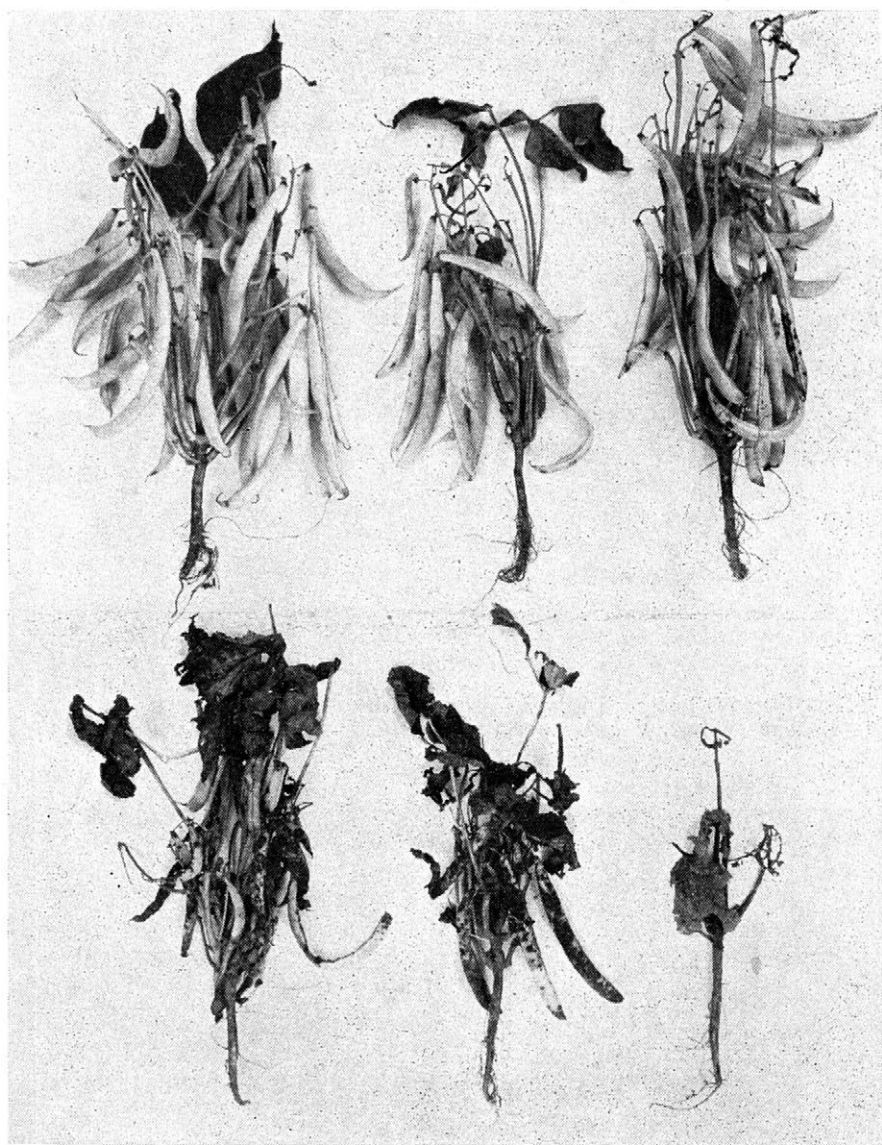
Množství česneku v 100 ml vody, ve které byla semena máčena	Procento vzešlých rostlin				Procento zbylých rostlin 30. den (19. VI.)	Zdravotní stav rostlin		
	dny vzcházení					(procento napadených rostlin)		
	8.	14.	22.	30.		24. VII.	5. VIII.	20. VIII.
0 (kontrola)	22,8	64,7	64,7	64,7	46,9	20% listy	90% lusky	100% lusky
3 g	12,8	68,3	72,0	72,0	62,5	0,3% listy	5% lusky	15% lusky
4 g	12,0	61,0	63,6	63,6	56,6	0	0	0
5 g	4,7	50,0	52,3	52,3	49,0	0	0	0
6 g	0,3	35,3	42,6	42,6	39,3	0	0	0

Část vzešlých kontrolních rostlin uhynula brzy po vzejití za typických příznaků „černé nohy“, způsobené houbou *Colletotrichum lindemuthianum*. Z rostlin ošetřených česnekem zašel tímto způsobem nepatrný počet. V porostu zbývajících kontrolních rostlin se velmi rychle počala šířit anthraknóza i bakteriózy (tabulka V), zatímco rostliny ošetřené vyššími dávkami česneku (4–6 g/100 ml



Graf č. 3.: Vzházení rostlin, jejichž semena byla máčena 48 hod. ve vodě s různým množstvím rozetřené česnekové kaše (polní pokus provedený roku 1958)

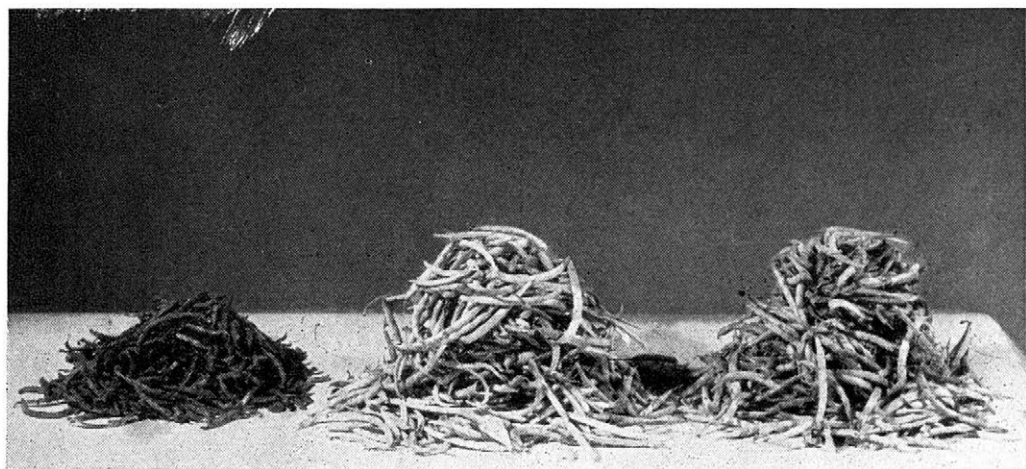
vody) zůstaly až do 20. srpna zdravé. Průměrné váhy zelené hmoty a lusků sklizených koncem srpna na jedné parcele ve třech variantách pokusu jsou uvedeny v tabulce VI. Na parcele, na které byla seta semena máčená 4 hod. v česnekové kaši ředěné v poměru 4 : 100, bylo sklizeno třikrát více lusků než v kontrolním



8.: Vzorok rostlin, jejichž semena byla ošetřena zředěnou česnekovou kaší (4 : 100)
a vzorok rostlin kontrolních (dole)



9.: Sklizené fazolové lusky z kontrolní parcely (vlevo) a z parcely, na kterou byla seta semena máčená 48 hod. v česnekové kaši, zředěné vodou v poměru 4 : 100 (vpravo).
(Polní pokus z roku 1957)



10.: Fazolové lusky sklizené z kontrolní parcely a z parcel s rostlinami ošetřenými česnekem v dávce 4 a 5 g na 100 ml vody. (Polní pokus z roku 1958)

VI. Výsledek polního pokusu z roku 1958. Průměrná váha zelené hmoty a sklizených lusků z rostlin, jejichž semena byla ošetřena česnekem. (Orientační stanovení průměru váhy rostlin z jedné parcely dne 25. VIII.)

Ukazatel	Průměrná váha zelené hmoty 1 rostliny		Průměrná váha lusků 1 rostliny		Napadení lusků houbovou <i>Coll. lind.</i> a bakt. v %	Poznámka
	g	% (K=100)	g	% (K=100)		
Kontrola	34	100	18	100	100%	
Semena máčena 48 hod. v 100 ml vody s 3 g česneku	64	188	42	233	90%	
Semena máčena 48 hod. v 100 ml vody s 4 g česneku	88	259	56	311	0%	viz foto č. 10.

pokusu. Sklizené lusky z této varianty pokusu byly zcela zdravé, zatímco v kontrolní variantě byly stoprocentně napadeny (obr. č. 10).

Koncem vegetační doby se počaly choroby fazole přenášet větrem i hmyzem z kontrolních parcel i na ostatní parcely. Zvláště rychle se choroby šířily v době, kdy byl pokosen ochranný porost ječmene, který izoloval parcely jednotlivých pokusných variant. Proto jsme nezaznamenali při hodnocení sklizně semen v žádné variantě tohoto pokusu stoprocentní úspěch. Nejlepšího výsledku jsme opět dosáhli po namočení semen do česnekové kaše zředěné vodou v poměru 4 : 100 (graf č. 4). Váha semen byla 2,71krát větší než v kontrole, tj. o 10,2 q/ha, a z celkového množství sklizených semen bylo 90 % zdravých, zatímco v kontrole jich bylo pouze 16,4 % (tabulka VII).

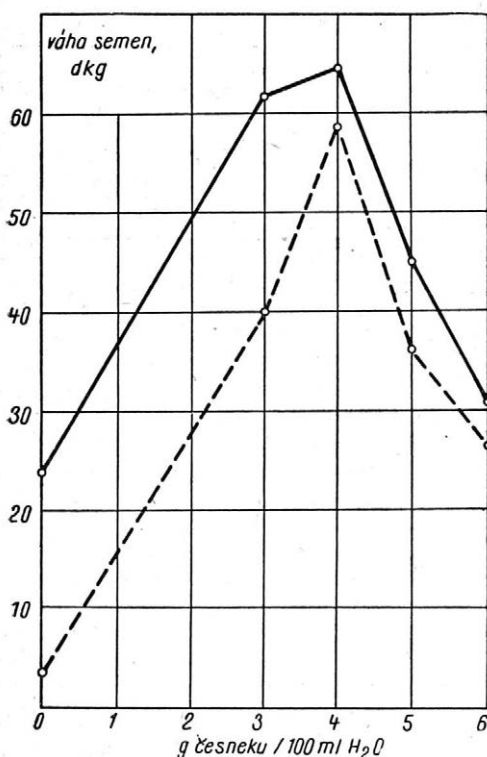
VII. Výsledek polního pokusu z roku 1958: váha semen ze sklizených lusků dne 9. IX.

Množství česneku v 100 ml vody, ve které byla semena máčena 48 hodin	Průměrná celková váha semen z 1 parcely		Hektarový výnos semen v q/ha	Semena zdravá		Semena napadená <i>Col. lind.</i> a bakteriemi	
	dkg	% (K=100)		dkg	% (celk. v. = 100)	dkg	% (celk. v. = 100)
Kontrola 0 g česneku	23,8	100	5,9	3,9	16,4	19,9	83,6
3 g česneku v 100 ml vody	61,6	258,8	15,4	39,6	64,3	22,0	35,7
4 g česneku v 100 ml vody	64,5	271,0	16,12	58,5	90,7	6,0	9,3
5 g česneku v 100 ml vody	45,0	189,1	11,25	36,0	80,0	9,0	20,0
6 g česneku v 100 ml vody	30,7	128,9	7,7	26,3	85,7	4,4	14,3

V polních podmínkách jsme pracovali s odrůdou fazole Zlatý roh. Velikost semen různých odrůd fazole, tuhost jejich obalů i jiné vlastnosti jsou značně odlišné a proto jsme očekávali, že i působnost česneku bude u různých odrůd různá. V orientačních nádobových pokusech jsme zjišťovali vzcházivost semen z různých vzorků několika odrůd fazole máčených 48 hodin v česnekové kaši, zředěné vodou v poměru 1 : 100—5 : 100 a zjistili jsme jejich různou citlivost. Z výsledků dvou

opakovaných pokusů s účinkem česneku na vzházení jsme mohli stanovit toto pořadí citlivosti námi sledovaných vzorků odrůd:

- 1.—2. tolerantní odrůdy: Kvalita (1,5), Zlatý roh (2), Petrovská tyčková (2);
3. citlivé odrůdy: Slavia (3), Saxa (3), Podřípská (3);
- 4: velmi citlivé: Moravská perla, Olomoucká zelenoluska plochá (4).



Graf č. 4: Působení různých dávek česneku při moření semen na výnos fazolových semen a na jejich zdravotní stav. (Výsledek polního pokusu z roku 1958)

— průměrná váha semen sklizených z jedné parcely
 --- průměrná váha zdravých semen sklizených z jedné parcely

Pokusy s působením různě koncentrovaných šťáv česneku na klíčení měly podobné výsledky. Poněkud citlivěji reagovala pouze semena odrůdy Kvalita, jejichž klíčivost byla více inhibována než klíčivost semen odrůdy Zlatý roh.

Diskuse

Příznivé výsledky, které jsme dosáhli v našich nádobových i polních pokusech s ochranou fazole proti anthraknóze a bakteriové skvrnitosti vyvolávané *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Smith) Dowson máčením semen ve zředěné česnekové kaši (4 : 100) dokazují, že fytoncidů česneku lze použít proti bakteriovým i houbovým chorobám rostlin a že v případě potřeby lze ošetření semen fazole termickým způsobem nahradit prostým namočením semen do česnekové kaše.

Ošetření napadených semen fazole česnekem poskytuje stejně dobré výsledky, jako moření termické, je mnohem jednodušší a nevyžaduje zvláštního zařízení. Jednou z nevýhod tohoto způsobu ochrany je nepříznivý účinek dlouhodobého

máčení semen na vzcházení rostlin, které se nepříznivě projevuje po zasetí semen do extrémně suché nebo chladné půdy. Lze jí čelit zvýšením normy množství semen při výsevu. Další nevýhody jsou: různá citlivost semen jednotlivých odrůd k fytoncidům česneku, různý obsah účinných látek česneku různých odrůd, původu a stáří a poměrně velké množství potřebného materiálu. V našich pokusech jsme pracovali převážně se semeny odrůdy Zlatý roh a s česnekem Maco. V dalším studiu hodláme naši metodu prověřit podrobněji i u jiných odrůd. Nesnáze způsobené nestejnocenností česneku různého původu a stáří nejsou příliš velké. V některých orientačních pokusech jsme použili česnek zcela čerstvý, v jiných případech již částečně zaschlý. Protože váha zaschlého česneku je menší, není obsah účinných látek v 1 g rozetřené kaše příliš pozměněn. Česnek však musí být vhodně uskladněn (v chladnu).

V boji proti anthraknóze fazole i proti bakteriovým chorobám má neobyčejný význam očištění semen od parazitických mikroorganismů. Je zřejmé, že kdyby výrobci semenného materiálu mořili před setím veškerá semena at termicky či česnekem a vhodnými zásahy omezili rozšiřování chorob v množitelských porostech, snížil by se výskyt anthraknózy i bakterií u fazolů v široké praxi na minimum. Proto je třeba věnovat i nadále pozornost zkoumání nových dokonalejších metod ošetření semen fazolů.

Souhrn

1. Byl popsán kmen fytopatogenní bakterie *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Schmith) Dowson, která způsobuje skvrnitost fazole.

2. V pokusech *in vitro* jsme prokázali, že fytoncidy česneku působí toxicky na *Xanthomonas phaseoli* i na původce anthraknózy fazolů *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav.

3. V orientačních nádobových pokusech jsme zkoušeli mořit zdravá a viditelně napadená semena fazolů Zlatý roh v česnekové kaši, zředěné vodou v poměru 1 : 100–30 : 100 po dobu 24 a 48 hodin. Ochranný účinek dvoudenního máčení byl dokonalejší.

4. V nádobových i polních pokusech, prováděných v letech 1957–1958 v Ružyni, se nejlépe osvědčilo 48hodinové máčení semen fazole Zlatý roh ve zředěné česnekové kaši v poměru 4 : 100. Vzcházení rostlin je po tomto zásahu poněkud inhibováno, avšak další růst není narušen. Tímto způsobem lze očistit semena fazole od původce anthraknózy i bakteriové skvrnitosti. V pokusu prováděném roku 1957 bylo dosaženo při ochraně proti těmto chorobám stoprocentního úspěchu (když bylo použito 20 % semen viditelně napadených anthraknózou) a výnos zelených lusků byl v tomto případě zvýšen na 367 % (vzhledem k výnosu na kontrolních parcelách, na které byla seta suchá semena). Podobné výsledky byly získány i v pokusech konaných v roce 1958. Váha lusků byla zvýšena ze 100 % na 311 % a jejich zdravotní stav byl bezvadný. Váha sklizených semen z parcel, na které byla seta semena ošetřená česnekovou kaší (4 : 100), byla 2,7krát větší než v kontrole a z celkové váhy sklizených semen byla 90,7 % zdravých, zatímco v kontrole bylo z celkového množství pouze 16,4 % zdravých semen.

5. Výhodou metody je dokonalá účinnost a snadnost, s jakou lze moření provádět. Nevýhody jsou: nepříznivý účinek dlouhodobého máčení semen na vzcházení rostlin v extrémně suché půdě, různá citlivost jednotlivých odrůd fazole

a měnící se obsah účinných látek v česneku. Ošetřená semena je třeba sít do normálně vlhké půdy a je nutné zvýšit normu množství semen pro výsev na jeden hektar.

Literatura

1. Beľtjukova K. I.: Izučeniye dějstvija fitoncídov na fitopatogennyje baktérii i opyt ispolzovanija fitoncídov v boľbe s nimi. Fitoncidy, ich roľ v prirodě. Str. 106-118, Leningrad 1957. — 2. Burychina E. K.: Fomoz kapusty i měry boľby s nim. Sad i ogorod, 1, 1950. — 3. Dorožkin N. A., Sapogova A. A.: K voprosu ob ispolzovanii fitoncídov v boľbe s fitoforoj kartofelja. Sb. nauč. tr. inst. soc. s-ch. AN BSSR, 3, 23-30, 1955. — 4. Gorlenko M. V.: Fitoncidy vysšich rastěnij i fitopatogennyje mikro-organismy. Fitoncidy, ich roľ v prirodě. Str. 57-61, Leningrad 1957. — 5. Charkina G. A.: Sravnitel'noje dějstvije fitoncídov česnoka na fitopatogennyje baktérii. Mikrobiologija, 20, 5, 434-435, 1951. — 6. Chetagurova F. V.: Vlijanije fitoncídov na fitopatogennyje baktérii. Fitoncidy, ich roľ v prirodě i značeniye dlja mediciny. Str. 21-33, Moskva 1952. — 7. Izraïľskij V. P. a spol.: Baktěrial'nyje bolezni rastěnij. Moskva 1952. — 8. Janýška A.: Moření semene hrachu proti anthraknose. Sborník ČSAZV, Rostl. výroba 3, 10, 993-1018, 1957. — 9. Korotkova P. J.: Protravľivaniye semjan gorochu protiv askochity. Selekcija i semenovodstvo č. 4, 69-71, 1950. — 10. Lipecckaja A. D.: Vlijanije fitoncídov na spory vozbuditělja kamennoj golovni jačmenja (*Ustilago hordei* Kell. et Sw.), DAN SSSR, 52, 6, 533-554, 1946. — 11. Lipecckaja A. D.: Ispytaniye fitoncídov v boľbě s sosudistym baktěríosam kapusty. Sad i ogorod, 1950. — 12. Stapp C.: Bakterielle Krankheiten, Berlin 1956. — 13. Tokin B. P.: Fitoncidy, Moskva 1951. — 14. Ujevič I.: Nový způsob boje proti *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. původci anthraknosy fazole. Vědecké práce VÚRV Ruzyně, 187-211, 1957.

Применение фитонцидов чеснока для протравливания семян фасоли против антракноза, вызываемого грибом *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. и против пятнистости, вызываемой бактерией *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Smith) Dowson

1. Был описан штамм фитопатогенной бактерии *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Smith) Dowson, которая вызывает пятнистость фасоли.
2. В опытах *in vitro* мы доказали, что фитонциды чеснока действуют токсически на *Xanthomonas phaseoli* и на возбудителя антракноза фасоли *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav.
3. В ориентировочных опытах в вегетационных сосудах мы пробовали протравливать здоровые и явно зараженные семена фасоли Златый рог в чесночной каше, разбавленной водой в соотношении 1 : 100 — 30 : 100, в течение 24 и 48 часов. Защитное действие двухдневного замачивания было более совершенным.
4. В полевых опытах и в опытах в вегетационных сосудах, проводимых в 1957—1958 гг. в Рузыни, лучше всего оправдало 48-часовое замачивание семян фасоли Златый рог в разбавленной чесночной каше в соотношении 4 : 100. Всходы

растений после этого вмешательства до некоторой степени были ингибированы, однако дальнейший рост не нарушался. Этим способом можно очистить семена фасоли от возбудителя антракноза и бактериальной пятнистости. В опыте, проводимом в 1957 г. при защите от этих болезней был достигнут 100%-ный успех (когда было использовано 20 % семян, явно пораженных антракнозом) и урожай зеленых бобов увеличился до 367 % (по сравнению с урожаем на контрольных делянках, на которых были посеяны сухие семена). Подобные результаты были получены и в опыте, проводимых в 1958 г. Вес бобов был повышен со 100 до 311 % и состояние их здоровья было безупречным. Вес убранных семян с делянок, на которых были посеяны семена, обработанные чесночной кашей (4 : 100), был в 2,7 раза больший, чем в контроле, и из общего веса убранных семян было 90,7 % здоровых, в то время как в контроле из общего количества было только 16,4 % здоровых семян.

5. Преимуществом метода является его полная эффективность и простота, с которой можно проводить протравливание. Недостатки его следующие: неблагоприятное действие длительного замачивания семян на всхожесть растений в крайне сухой или слишком холодной и влажной почве, различная чувствительность отдельных сортов фасоли и изменяющееся содержание действующих веществ в чесноке. Обработанные семена следует сеять в нормально влажную почву и необходимо повысить норму высева на 1 га.

Die Verwendung der Phyttonzide des Knoblauchs zum Beizen von Bohnensamen gegen die durch den Pilz *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. verursachte Anthraknose und gegen den durch das Bakterium *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Smith) Dowson hervorgerufenen Bohnenbrand

1. Es wurde ein Stamm des phytopathogenen Bakteriums *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Smith) Dowson beschrieben, der den Bohnenbrand der Bohnen verursacht.

2. In den Versuchen in vitro haben wir nachgewiesen, daß die Phyttonzide des Knoblauchs auf *Xanthomonas phaseoli* und auf den Erreger der Bohnenanthraknose *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. toxisch einwirken.

3. In den Vorversuchen wurden die gesunden und die sichtbar infizierten Samen der Bohnensorte *Zlatý roh* (Goldenes Horn) in Knoblauchbrei, der in einem Verhältnis von 1 : 100 — 30 : 100 verdünnt war, 24 und 48 Stunden lang gebeizt. Die Schutzwirkung des zweitägigen Eintauchens war vollkommener.

4. In den Jahren 1957 bis 1958 in Ruzyně angestellten Gefäß- und Feldversuchen bewährte sich am besten eine 48stündige Naßbeize der Samen der Bohnensorte *Zlatý roh* in verdünntem (im Verhältnis 4 : 100) Knoblauchbrei. Der Aufgang der Pflanzen wird nach diesem Eingriff ein wenig inhibiert, das weitere Wachstum jedoch nicht beeinträchtigt. Nach diesem Verfahren können die Bohnensamen von dem Anthraknoseerreger und von der Bohnenbakteriose gereinigt werden. In einem 1957 durchgeführten Versuch wurde bei der Bekämpfung dieser Krankheiten ein 100prozentiger Erfolg erzielt (als 20 % von Anthraknose sichtlich befallene Samen verwendet wurden) und der Ertrag an grünen Schoten sich auf 367 % erhöhte (im Vergleich mit dem Ertrag auf den Kontrollparzellen, auf denen trockene Samen ausgesät wurden). Ähnliche Ergebnisse wurden auch in den 1958 vorgenommenen Versuchen erzielt. Das Schotengewicht er-

höhte sich von 100 auf 311 % und der Gesundheitszustand war tadellos. Das Gewicht der Samen, die von den Parzellen geerntet wurden, auf denen mit dem Knoblauchbrei (4:100) behandelte Samen zur Aussaat gelangten, belief sich auf das 2,7fache der Kontrollparzellen und von dem Gesamtgewicht der geernteten Samen waren 90,7 % gesund, während die Kontrolle nur 16,4 % nicht befallene Samen aufwies.

5. Der Vorteil der Methode besteht darin, daß sie eine vollkommene Wirkung hat und die Beizung leicht durchführbar ist. Die Nachteile sind: der ungünstige Einfluß des langfristigen Einweichens der Samen auf das Aufgehen der Pflanzen in extrem trockenen oder kalten Böden, die unterschiedliche Empfindlichkeit der einzelnen Bohnensorten und der sich verändernde Gehalt an Wirkstoffen im Knoblauch. Die behandelten Samen müssen in normal feuchten Boden eingebracht werden und die Saatmenge (Norm) je Hektar muß erhöht werden.

Utilization of the Phytoncides of Garlic to Treat Bean Seed for Anthracnose Caused by Fungus and for Spot Disease Caused by the Bacteria *Xanthomonas Phaseoli* (E. F. Smith) Dowson

1. The strain of phytogenic bacteria *Xanthomonas Phaseoli* (E. F. Smith) Dowson, which caused spotdisease of beans, was described.

2. In experiments in vitro we showed that the phytoncides of garlic act on *Xanthomonas Phaseoli* and on the cause of anthracnose of beans *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav.

3. In orientation tests in vessels we tried treating healthy and visibly affected seed of beans of the Zlatý roh (Golden Horn) variety in garlic purée diluted with water in the ratio 1:100 - 30:100 for 24 and 48 hours. Two days' soaking had more protective effect.

4. In vessel and in field tests, carried out in 1957 and 1958 in Ruzyně, the best was found to be 48 hours' soaking of the Zlatý roh bean seed in garlic purée diluted in the ratio 4:100. The plant is somewhat inhibited in sprouting after this treatment but the further growth is not disturbed. In this way bean seed can be cleaned of the cause of anthracnose and of bacterial spotdisease. In the experiment carried out in 1957 there was 100 per cent success in protection against these diseases, when 20 % of the seed used was visibly affected by anthracnose, and the yield of pods was increased in this case by 367 % (over the yield on control plots where dry beans were sown). Similar results were obtained in the experiments made in 1958. The weight of the pods was increased by 100 to 311 %, and they were in excellent state of health. The weight of seed harvested from the plots where the seed sown had been treated with garlic purée (4:100) was 2.7 times greater than on the control plots, and of the total harvested weight, 90.7 % were healthy beans, whereas on the control plot only 16.4 % of the total were healthy.

5. The advantage of the method is the great effectiveness and the ease in which the treatment can be carried out. The disadvantages are: unfavourable effect of long-term soaking of seed on sprouting of plants in extremely dry soil, the difference in sensitivity of different varieties of beans, and the varying content of active ingredients in the garlic. The treated seed must be sown in normally moist soil, and the standard amount of seed sown per hectare must be increased.

Škody způsobené hrabošem polním na ovocných dřevinách

Вред, причиняемый обыкновенной полевкой фруктовым деревьям в ЧСР

Die Feldmaus als Schädling von Obstbaumbeständen

Kandidát biologických věd inž. dr. I. GRUICH

Laboratoř pro výzkum obratlovců ČSAV, Brno

Došlo dne 4. XII. 1957

Hraboš polní (*Microtus arvalis*) je obávaným zemědělským škůdcem. Tento hlodavec, který je hostitelem původců mnohých ohniskových onemocnění člověka i hospodářských zvířat (např. tularemie, salmonellos, leptospirózních onemocnění a podle některých zpráv i brucelózy atd.), působí v roce svého přemnožení obrovské ztráty zemědělské výroby. Podle našich zjištění dosahují škody, způsobené hrabošem polním v Československu, okolo jedné miliardy Kčs (K r a t o c h v í l a kol., 1957).

Hraboši polní poškozují i ovocné dřeviny. Tyto škody jsou však nedostatečně známy (Turček, 1950, Blattný a Starý, 1944, Blattný, Starý, Nedomlel, 1956) a často jsou přičítány všechny podobné škody na ovocných dřevinách příbuznému druhu — hryzci zemnímu (*Arvicola terrestris*).*)

Na rozdíl od hryzce zemního nepřehryzává hraboš polní u ovocných stromů kořeny, ale ohlodává jen jejich kůru a vodivé systémy. Hraboši polní napadají ovocné dřeviny hlavně do stáří 20–25 let. Jejich žírem trpí velmi jabloně, meruňky a broskve, méně třešně, višně, švestky, slívy a případně hrušně. Na ořešácích jsme vůbec nezjistili ohryzy hrabošů polních. Nejvíce jsou napadány sorty s hladkou tenkou kůrou. Většina škod tohoto hlodavce na ovocných dřevinách je způsobena v podzimním a zimním období (září až březen).

Velikost a tvar požerku, jeho umístění na kmeni, kořenovém krčku či kořeni závisí na mnoha činitelích, např. na velikosti stromku, na intenzitě a délce doby žíru, podmínkách klimatických nebo agrotechnických. Zpočátku ohlodají tyto hlodavci kůru na ploše 1–2 cm², těsně při zemi na kořenovém krčku nebo na kmeni. Postupným ohryzáváním se rána zvětšuje a hraboši mohou stromek úplně okroužkovat. Za rákosovým obalem kmene, v kupičce plevele, nahrnuté ke stromku

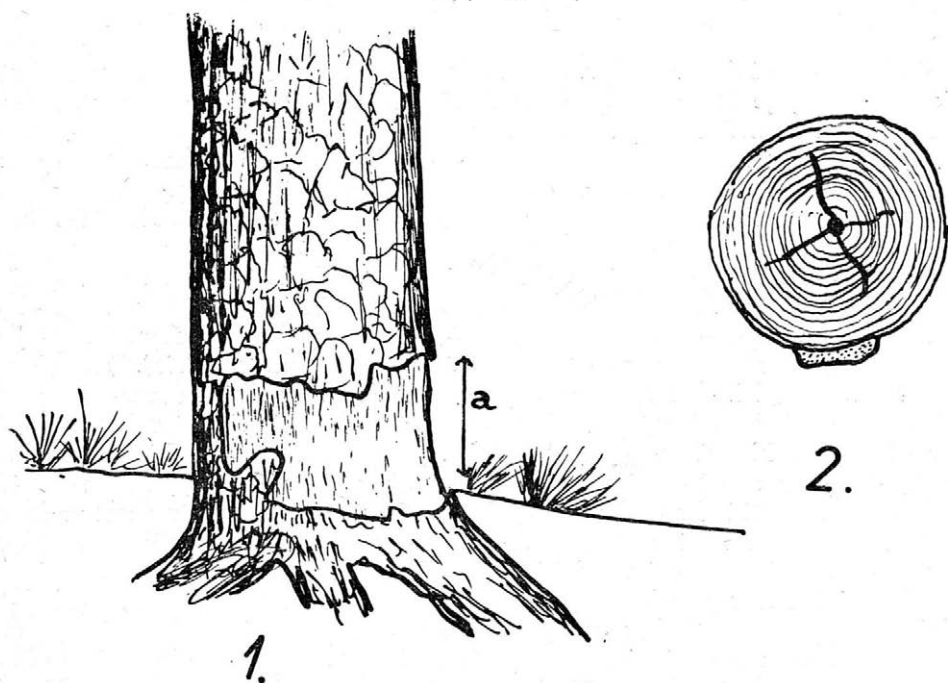
*) Hryzec zemní, dříve nazývaný hraboš vodní, dosahuje velikosti krysy. Hrabe si rozsáhlé systémy podzemních chodeb a živí se mimo zelené potraviny ve značné míře i podzemními částmi rostlin, jako např. cibulkami, hlízami a kořeny. U ovocných stromků ohlodává postupně všechny kořeny, takže je někdy možno napadený stromek lehce vytáhnout ze země.

Hraboš polní („polní myš“ s krátkým ocáskem, tupou hlavou a ušními bolteci krytými srstí) je mnohem menších rozměrů. Buduje své podzemní nory na poměrně malé ploše a živí se většinou jen zelenými částmi rostlin. Na podzim a v zimě potřebuje koncentrovanější krmivo, a proto vyhledává a konzumuje i kořenové krčky vojtěšek a jetelů, vyhrabává hlízky různých rostlin.

nebo ve sněhové zátěži se mohou tyto škůdci dostat i do větší výšky, případně vylézt i do korunky stromků, kde mohou ohlodat kůru na silnějších větvích (obr. 1—4). Žírem hrabošů polních jsou poškozovány nejen stromky rostoucí jednotlivě na mezích nebo alejích, ale i v udržovaných školkách, polních sadech nebo zahradách, jež přiléhají k polím. Často jsou ohryzy hrabošů polních považovány neprávem, zvláště u nechráněných kmenů, za škody zajíců a králíků.

Poškozené stromky hynou obvykle teprve ve vegetační periodě následujícího roku, kdy stromek vyčerpá poslední zásobní látku, uložené ve kmeni a koruně. Napadené kroužkované stromky na jaře se ještě normálně olistí a vykvetou, ale obvykle v květnu až v červenci zaschnou. Méně poškozené stromky se snaží ránu vyhojit závalem. Obnažené dřevo, tvoří-li více než jednu třetinu obvodu kmene, zával obvykle nepřekryje dostatečně rychle, a zraněné dřevo je postupně rozkládáno saprofytyckými i parazitickými mikroorganismy, ztrácí svou pevnost i pružnost a stromky, třeba i zdánlivě vyhojené, se lámou při silnějším větru. Nejvíce trpí plodící stromky s vyvinutou korunou.

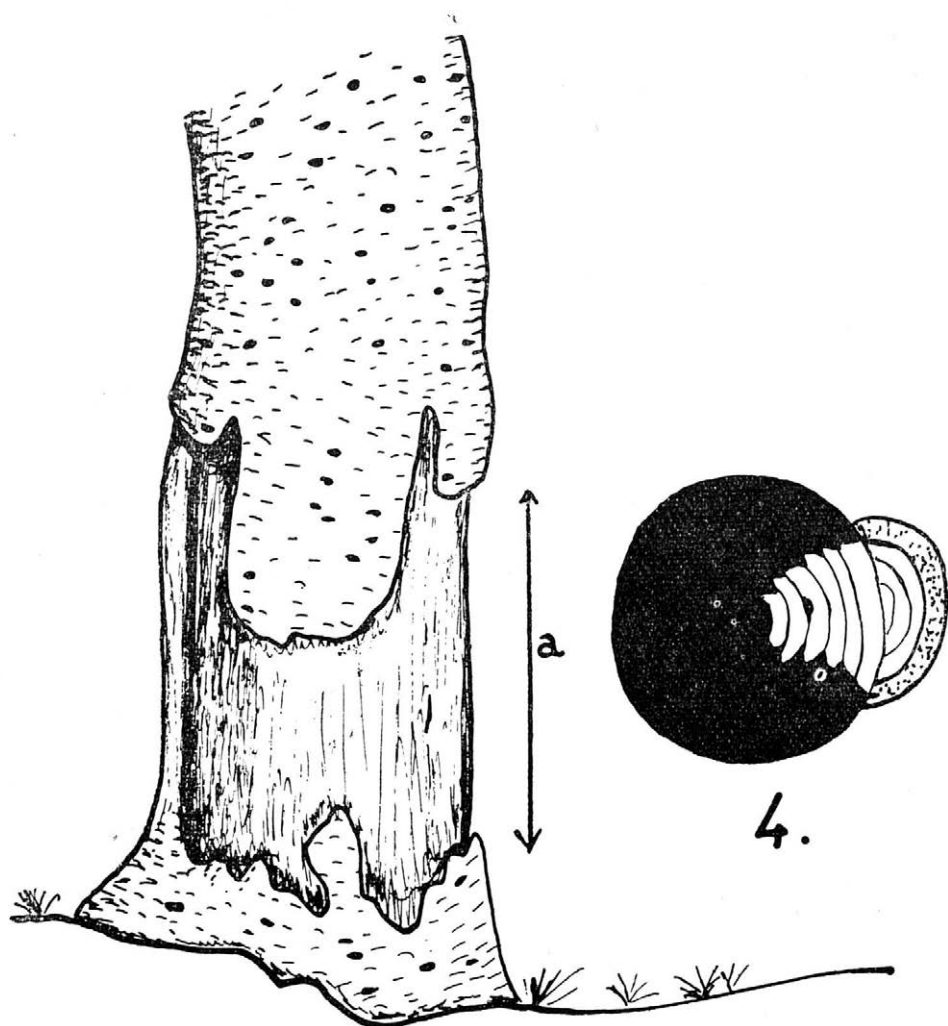
Veliké škody ve školkách, způsobené hrabošem polním, vznikly v roce 1940 až 1941 v okresech Uherské Hradiště, Kyjov, Boskovice a Jindřichův Hradec.



Příklady škod, působených hrabošem polním na ovocných dřevinách: 1. Čerstvě ohlodaná kůra a kambium jabloně; a = 20 cm. 2. Příčný průřez kmene jabloně v místě poškození.

V těchto letech byly zničeny na mnoha místech několikahektarové školky ovocných dřevin, připravených k jarnímu odprodeji (K r a t o c h v í l a kol., 1957). Podle našich zjištění způsobili hraboši polní ve školkách škody např. v Těchobuzi u Litoměřic v roce 1949—1950 na jabloních, pěstovaných na typových podnožích EM. Celkem bylo poškozeno ve školce a ve výsadbě 25 % množství stromků, což přesahovalo částku 100 000 Kčs (ve staré měně). V Jemnicích (okr. Dačice) bylo v roce 1954 zničeno 6000 mladých jabloní. V JZD Stěžery bylo v letech 1954 zničeno ve školce 3000 čtyřletých jabloní. V témže roce ohlodali hraboši polní

v Lováce u Šternberku 25 000 na pláňeti naočkovanych podnoží. Podobných příkladů bychom mohli vyjmenovat větší množství. Místy byly celé plochy školek zrušeny následkem žíru hrabošů polních, školkařský materiál byl rozsekán na otýpky na pálení. Důsledky škod tohoto škůdce jsou tím závažnější, že často ničí výsledky mnohaletého úsilí a práce školkaře a že je zničen mnohdy i nenahra-



3. Ohlodaná kůra a kambium na kmeni meruňky. Rána vyhojila kalusem. 4. Příčný průřez kmene v místě poškození. Černou barvou vyznačeno trouchnivé dřevo.

ditelný materiál. Protože se v letech po přemnožení hrabošů nedostává šlechtěnců, zdržuje se doplňování sadů a alejí často i o několik let, čímž vznikají další, těžko vyčíslitelné ztráty.

Hraboši polní poškozují zvláště mladé, nedávno vysázené ovocné dřeviny v polních sadech, zahradách a alejích. Tak např. ve velkém meruňkovém a broskvoňovém sadu státního statku Hrušovany nad Jevišovkou (plocha 280 ha), založeném v roce 1950, způsobili hraboši polní na podzim a v zimě let 1952–1953 ztrátu 10 % stromků. Krom toho dalších 20 % stromků hraboši značně ohryzali, a

protože nemohlo být provedeno včasné účinné protiopatření v pozdějších letech, uhynulo i z tohoto množství veliké procento meruněk a broskvoní. Celkovou škodu je nutno hodnotit částkou 400 000 Kčs. Podle inž. Chroboka, který v tomto sadě pracoval v roce 1953, se škoda způsobená tímto škůdcem rozrostla v jednom oddělení sadu na ploše 40 ha na 65 % vysázených stromků. Výsledkem kontroly, kterou jsme provedli v tomto sadu dne 1. září 1956 bylo zjištění, že ze 454 prohlédnutých dřevin má 103 stromků (22,7 %) zjevné rány v místech ohryzu hrabošů polních z let 1952—1953 (tab. I). Tyto stromky bude nutno nahradit novými. 17,2 % stromků bylo zaschlých nebo živořících z jiných příčin. Nově vysázených stromků v místech vyřazených meruněk a broskvoní (buď žírem hrabošů nebo z jiných příčin) bylo 23,2 %. Jen 36,9 % stromků zůstalo po hraboším přemnožení nepoškozeno.

I. Následky přemnožení hraboše polního v letech 1952 až 1953 v meruňkovém polním sadu u Hrušovan nad Jevíčkem. Stav ke dni 1. IX. 1956

(Zjištění provedeno spolu se Zd. Šimkem, posluchačem III. ročníku VŠZ v Brně)

Druh podkultury	Parcels	Celkem studováno stromků = 100 %	Nepoškozené stromky		Staré stromky, poškozené pohryzy hraboše polního v letech 1952—1953		Stromky živořící nebo zaschlé z jiných příčin		Výsadba na místech vyhynulých stromků (činnosti hrabošů i jiných příčin)	
			kusů	%	kusů	%	kusů	%	kusů	%
Vojtěškotráva	3	259	57	22,1	76	29,4	51	19,6	75	28,9
Směska s kukuřicí	3	90	53	59,0	12	13,3	11	12,2	14	15,5
Žito + oves	2	104	57	54,8	15	14,4	16	15,4	16	15,4
Celkem		453	167	36,9	103	22,7	78	17,2	105	23,2

Na státním statku Osoblaha způsobili hraboši polní v zimě let 1955—1956 v jabloňovém sadu Pelhřimovky u Slezských Rudoltic na ploše 26 ha značné škody. Z 2500 jabloní 5—6 let po výsadbě zaschlo podle našich zjištění již v roce 1956 490 jabloní, tj. 19,5 %. Kromě toho zbylo v tomto sadu dalších 17 % silně poškozených stromků, které bude nutno co nejdříve ze sadu odstranit. V jiném oddělení téhož statku, v polním jabloňovém sadu u Dívčího Hradu na ploše 24 ha bylo poškozeno v zimním období let 1955—1956 32 % 5—6 let starých jabloní, ze kterých bylo nutno již v roce 1956 vyměnit 17 %.

V třešňovém sadu u Drnového Pole jsme zjistili v roce 1956 velké škody, způsobené hrabošem polním. Z prohlédnutých 98 stromků 4—6 let po výsadbě bylo silně hrabošem polním poškozeno 18 stromků a podle výsadby mladších stromků lze předpokládat, že tu vznikly škody ohryzem hrabošů větších rozměrů.

Jednotlivé poškozené stromky v alejích jsme nacházeli porůznu v celém území Moravy a Slezska. V travnatém okraji silnice u Pelhřimova jsme našli v roce 1956 čerstvě ze $\frac{4}{5}$ ohryzanou jablono s průměrem kmene přes 20 cm, jistě starší než 25 let. Protože místa silně poškozených sadů a ovocných školek jsou od sebe značně vzdálena a mají velmi odchylnou zeměpisnou polohu, musíme předpokládat, že tyto škody probíhají hojně v celém našem území, ale že jsou buď přehlíženy nebo nedoceněny.

Jak jsme se již zmínili, poškozují hraboši polní ovocné dřeviny obvykle jen v době svého přemnožení, jež se opakuje v různé době po sobě v závislosti od mnoha činitelů. V některých místech, jako např. na pastvinách a úhorech v Oderských horách, se hraboši polní přemnožují každým rokem již od roku 1945, na Osoblažsku a Opavsku se tito hlodavci rozmnožili ve dvou po sobě následujících letech 1955—1956, u Hrušovan n. Jev., Drnholce a Mikulova následovalo jejich přemnožení po 3 letech (1952, 1956), někde pak následuje po 4 nebo více letech (K r a t o c h v í l a kol., 1959). Podle našich zjištění se opakuje v našich podmínkách přemnožení hrabošů polních nejčastěji po třech až čtyřech letech, tj. probíhá každým rokem přibližně na čtvrtině plochy Československé republiky. Někde zasáhne přemnožení hrabošů polních rozsáhlá území několika krajů, častěji jen menší území jsou zaplavena tímto hlodavcem.

II. Počet nově napadnutých meruněk a broskvoní v polním sadu u Hrušovan nad Je- vičkem v roce 1956

Datum 1956	Počet prohlédnutých stromků	Počet napadnutých stromků hrabošem polním	% napadnutých stromků hrabošem polním	Poznámka
13. VIII.	843	—	—	
23. VIII.	391	—	—	
1. IX.	842	2	0,2	
4. IX.	500	4	0,8	
2. X.	442	18	4,0	
8. X.	318	20	6,2	Dosud neočištěná parcela u lesa

V roce přemnožení se může množství hraboši užívaných nor zvětšit více než 70—120krát. Podle výpočtu (S v i r i d ě n k o, 1953) může pět párů do jara přeživších hrabošů polních dát potomstvo 8770 kusů. Proto je nutné sledovat množství nor hrabošů polních v sadech, školkách i alejích stále v průběhu celého roku. K masovému poškození sadu dochází, je-li počet hraboších nor větší než 1000 užívaných východů na 1 ha (tj. 1 východ na 10 m²). Na podzim množství hrabošem napadených stromků se rychle rozrůstá. Tabulka II ukazuje, že v době od 1. září do 8. října 1956 poškodili hraboši v hrušovanském polním sadu více než 6 % stromků, a kdyby nebyla včas provedena deratizační akce, množství poškozených stromků by se bylo jistě přiblížilo škodám z let 1952—1953. Škoda by však byla ještě větší, protože hraboši poškozovali již stromky starší, šest až sedm let po výsadbě, začínající již plodit.

Největší škody ve školkách vznikaly tam, kde byla podplodinou směska, obilovina nebo brambory. Mnohem menší ztráty jsou způsobeny hraboši tam, kde se provádělo pravidelné frézování, okopávání, obrývání a jiné agrotechnické zásahy.

Příčiny škod hrabošů polních na ovocných dřevinách jsou různé. V sadech Pelhřimovy, v Dívčím Hradu, u Hrušovan n. Jev. byla podplodinou víceletá

pícnina, vojtěškotráva, která poskytla těmto hlodavcům nejen nadbytek potravy, možnost nerušeného rozmnožování a stavby nor po dobu několika let, ale i dostatečnou ochranu před pernatými dravci ve vegetační době. Proto dosáhla populační hustota tohoto škůdce v těchto podmínkách neobyčejně velkých rozměrů. Přes to, že ve všech těchto sadech byly pečlivě udržované rýčem obryté kruhy okolo kmenů o průměru 3 m, pronikli hraboši polní ke stromkům a budovali si i na obryté půdě v těsné blízkosti kmenů své nory s hnízdními i zásobními komorami. Na některých obrytých kruzích jsme zjistili i více než sto hraboších nor. Dalším nedostatkem v polních sadech je ta skutečnost, že se hluboká orba provádí jen jedním směrem v pásech mezi stromy, mezi kterými zůstávají nerozorávané pruhy, zarůstající plevelem, které poskytují hrabošům právě tak výhodné podmínky jako vytrvalé nebo víceleté kultury, travnaté cesty, meze a stráňky mezi poli, tj. ohniska výskytu tohoto škůdce. Proto se v takto obdělávaných sadech udrží značně vysoké stavy hrabošů polních, kteří se z těchto míst šíří znovu po celé ploše a ohrožují ovocné stromy. Proto by bylo výhodnější provádět hlubokou orbu i podmínku v sadu křížovým způsobem a okolo stromků drny zarýt rýčem, aby v sadu nezůstaly nerozorávané plochy, na kterých by se tyto hlodavci mohli udržet a rozmnožit. Na význam podplodiny v sadu ukazuje tabulka I. Kde byla v sadu podplodinou vojtěškotráva, bylo zjištěno 29,4 % hrabošem poškozených stromků a výsadba v místech vyhynulých stromků 28,9 %. V místech s jinou podplodinou bylo hraboši polními poškozeno jen 13,3–14,4 % stromků a doplněno bylo jen 15,4–15,5 % nových stromků. Jinými slovy zbylo z výsadby stromků z roku 1950 v oddělení s vojtěškotrávou jen 22,1 % starých nepoškozených stromků, a na parcelách obdělávaných 54,8–59 % stromků.

Ke kmenům mladých stromů nesmíme házet vybraný plevel, neboť se v těchto kupkách mohou hraboši zachytit, vytvořit si své nory a odtud poškozovat mladé kmeny.

Rákosové ochranné obaly kolem kmenů umožňují vyšplhat hrabošům polním až do korunky. Rákosový obal poskytuje dobrý úkryt různým škodlivým druhům hmyzu. V předjaří se za slunných dnů udržuje za rákosovým obalem teplota a stromek je vystaven škodlivým účinkům mrazu. Proto doporučujeme užívat jen obalů z drátěného pletiva, které chrání kmeny dostatečně před ohryzy zvířel.

Správná agrotechnika a podplodina je nejsnadnějším a nejlepším prostředkem omezení škod, působených hrabošem polním (G r u l i c h, 1957). Dravci ani šelmy nemohou zabránit rychlému růstu množství hrabošů polních v sadech ani okolních polích. Mnohdy je účinný deratizační zásah jedinou podmínkou existence sadu (G r u l i c h - H a v l í n, 1957), neboť může zabránit vzniku citelných škod. Proto je nutno sledovat stavy hrabošů v sadech a školkách, abychom mohli včas provést preventivní hubení těchto hlodavců. Podle našich srovnávacích pokusů (K r a t o c h v í l a kol., 1959) se nejlépe osvědčoval návnadový způsob hubení hrabošů polních. Vysoce účinnou návnadou v polních sadech byl dobrý (plný) klíčivý oves, na který jsme v mořicím bubnu vytvořili lepidlou blanku z rostlinného stolního oleje (2 % na váhu ovsa), na níž jsme nalepili ve vodě nerozpustný fosfid zinku v množství 7–10 % k váze ovsa. Takto připravená návnada se musí spotřebovat nejdéle do 2 dnů po vyrobení. Rozkládá se po 1–2 kávových lžičkách do 2–3 hraboších nebo ostrým kulem šikmo vyrytých nor v těsné blízkosti kmene. Tato návnada neodpuzeje hlodavce, ba naopak je přitahuje. Působí již po 20 minutách po pozření. Účinnost této návnady se blíží 100 %. Po trávení hrabošů polních v sadu u Hrušova n. Jev. se již na druhý den po rozložení otráveného zrna neobjevily další požerky hrabošů polních na kůře stromků. Další možnosti boje s hrabošem polním dávají soudobé raticidy (např. Lepit-Endrin, Lepit-Aldrin,

Toxafen atd.). Naše pokusy, provedené na podzim r. 1958 jednoznačně ukázaly, že ke 100% vyhubení hrabošů polních dostačuje dávka 500 ccm emulze Lepit-Endrinu v 400—600 l vody na 1 ha. Tyto přípravky doporučuje nejen vysoká účinnost v boji s hrabošem polním, ale i snadná mechanizovatelnost prací, jež umožňuje ošetření obrovských ploch s minimálním počtem pracovních sil a zároveň poměrně malé ohrožení lovné zvěře a přirozených nepřátel hrabošů polních.

Souhrn

Škody působené hrabošem polním ve školkách a ovocných dřevinách zůstávaly až dosud přehlíženy nebo nedoceňovány a často byly zaměňovány s ohryzem hryzce vodního nebo i užitkové zvěře.

Hraboši napadají hlavně stromky do stáří 20—25 let. Nejvíce trpí jabloně, meruňky a broskvoně, méně již třešně a ostatní peckoviny. Silně napadený stromek hyne během prvního vegetačního období. Méně zraněné stromky vyhojují ránu závalem, ale obnažené dřevo je v krátké době rozloženo mikroorganismy a dřevina, zvláště s vyvinutou korunou nebo zatížená ovocem, se ve větru lehce zláme.

Škodami hrabošů polních tak vznikají ve vysazených mladých sadech nebo školkách, alejích často nenahraditelné, stotisícové škody, následky kterých jsou patrné v průběhu mnoha let.

Odstranění víceletých nebo vytrvalých píceňů ze sadu, křížové rozorávání a účinné hubení hrabošů polních jsou jedinými prostředky, kterými můžeme snížit škodlivost tohoto hlodavce na nejmenší míru.

Literatura

1. Bašenina N. V., Gruzďev N. N., Dukelskaja N. M., Šilov V. A.: Gryzuny — vrediteli sadov i ogorodov, MGU, Moskva 1957. — 2. Baudyš E.: Hospodářská fytopathologie, Brno, 1930. — 3. Blattný C., Starý B.: Atlas škodlivých činitelů našich ovocných plodin. Praha, 1944. — 4. Blattný C., Starý a Nedoměl: Choroby a škůdci ovocných rostlin. NČSAV, Praha 1958. — 5. Grulich I.: Hubení hraboše polního. Za socialistické zemědělství č. 24/1957. — 6. Grulich I., Havlín J.: Může ochrana myšožravých obratlovců v podmínkách ČSR nahradit boj proti škodlivým hlodavcům? V tisku. — 7. Kratochvíl J. a kolektiv: Hraboš polní (*Microtus arvalis*) a vědecké podklady boje s ním. NČSAV, Praha 1959. — 8. Sviridenko P. A.: Myševidnye gryzuny i zaščita ot nich urožaja, zapasov produktov i drevesnych kultur. AN USSR, Kiev, 1953. — 9. Sviridenko P. A.: Kritika práce: Bašenina, Gruzďev itd.: Gryzuny — vrediteli sadov i ogorodov. Zoologičeskij žurnal XXXIII, v. 9, 1958. — 10. Turček F.: Hlodavce v poľnohospodárstve. Bratislava, 1950.

Вред, причиняемый обыкновенной полевкой фруктовым деревьям в ЧСР

О вредной деятельности обыкновенной полевки в питомниках и фруктовых садах в ЧСР имеется весьма мало научного материала, ввиду того что вред, причиняемый этим грызуном, часто приписывался водяным крысам, кроликам, зайцам или козулям.

Обыкновенная полевка чаще всего повреждает фруктовые деревья до 25-летнего возраста и наносит огромный ущерб нашему народному хозяйству. Повреждения обыкновенной полевки встречаются главным образом на яблонях, абрикосах, далее в относительно меньшем масштабе на черешнях, вишнях, сливах, грушах и т. д. Сильно поврежденные деревья гибнут в следующем вегетационном периоде, менее поврежденные деревья покрывают раны калусом. Долгое время незащищенная корой древесина разлагается в результате деятельности паразитических или сапрофитических микроорганизмов или грибов и ветер легко ломает фруктовые деревья с хорошей кроной с урожаем.

Повреждения питомников и фруктовых садов, которые причиняет обыкновенная полевка, могут быть значительно снижены путем применения в садах глубокой перекрестной вспашки, своевременной уборки зерновых, устранения из садов многолетних кормовых культур и уничтожения грызунов современными дератизационными мероприятиями.

Die Feldmaus als Schädling von Obstbaumbeständen

Die Schäden, welche die Feldmaus Baumschulen und Obstbaumbeständen zufügt, wurden bisher übersehen oder unterschätzt; oft wurden sie auch der Wühlmaus oder Nutztieren zugeschrieben.

Die Feldmäuse fallen vor allem 1 bis 25 Jahre alte Bäume an. Am meisten leiden Apfel-, Aprikosen- und Pfirsichbäume, weniger Kirschbäume und die übrigen Steinobstbestände. Stark befallene Bäume gehen im Lauf der ersten Vegetationsperiode ein, bei schwächer befallenen Bäumen heilen zwar die Wunden, doch wird das entblößte Holz in kurzer Zeit von Mikroorganismen zersetzt und der Baum neigt zum Windbruch, besonders wenn seine Krone voll entwickelt oder mit Obst beschwert ist.

Die von Feldmäusen in Baumschulen, Obstgärten und Alleen verursachten Schäden erreichen bedeutende Summen und wirken lange Jahre nach.

Um die Schädlichkeit dieses Nagers auf ein erträgliches Maß zurückzuführen, sind vor allem mehrjährige oder ausdauernde Futterpflanzen aus dem Obstbaumbestand zu entfernen und der Boden muß kreuzweise aufgeackert werden, um eine systematische Vertilgung der Feldmäuse zu ermöglichen.

Příspěvek k poznání života krytonosce zelného (*Ceuthorrhynchus pleurostigma* Marsh.) v Československu

**К вопросу изучения жизни скрытохоботника капустного
(*Ceuthorrhynchus pleurostigma* Marsh.) в Чехословацкой республике**

Beitrag zur Erkenntnis der Biologie des Kohlgallenrüßlers (*Ceuthorrhynchus pleurostigma* Marsh.) in der Tschechoslowakei

Václav KAZDA

Biologický ústav ČSAV, oddělení fytopatologie, Praha

Předložil dopisující člen ČSAV inž. dr. C. Blatný

Došlo dne 18. III. 1959

Úvod

V zimních měsících 1958/59 jsem zjistil v porostech ozimé řepky v okolí Prahy značné množství rostlin s hálkami krytonosce zelného. Stupeň napadení připomínal zimní období 1953/54, kdy byl krytonosec zelný jednou z příčin vyzimování mnoha řepkovišť (Šedivý, 1956, Kazda, 1956). Znovu se potvrzuje, že tento nosatec náleží k vážným škůdcům ozimé řepky v ČSR.

Při studiu jiných nosatců, škodících v Československu na řepce a zelenině, jsem se zabýval také některými otázkami z bionomie krytonosce zelného, zvláště vztahem jeho výskytu a škodlivosti k plevelným i kulturním hostitelským rostlinám a problematikou jeho vývojových cyklů v klimaticky odlišných oblastech středních a jižních Čech. Výsledky dosud provedeného výzkumu předkládám v této práci.

Údaje z literatury

Nápadné hálky, které způsobuje krytonosec zelný na mnoha kulturních a plevelných rostlinách brukvovitých (*Brassicaceae*), byly patrně příčinou, proč byl řazen poměrně záhy mezi škůdce a proč je možno o jeho výskytu nalézt velmi mnoho záznamů. První zprávy o jeho bionomii uvádějí Curtis (1860), Tasschenberg (1865), Kaltenbach (1874) aj. Pozdější autoři zaznamenávají dvě generace v roce (Gallus, 1866, Schmidt, 1910, Schaufuss, 1916). Kaufmann (1925) sledoval výskyt larev a imag na rostlinách a během

přezimování v průběhu jednoho roku; řadí jej mezi „Dauerbrüter“. Podrobně se zabýval bionomií krytonosce zelného Isaac (1923). Zjistil, že se *Ceuth. pleurostigma* vyskytuje v Anglii ve dvou vývojem odlišných „rasách“, z nichž každá má pouze jedno pokolení v roce. „Jarní rasa“ klade vajíčka do hořčice polní (*Sinapis arvensis* L.) a přezimuje jako imago, „letní rasa“ klade vajíčka v létě a na podzim do různých brukvovitých plodin a přezimuje v larvální fázi. Škodu způsobuje pouze „lesní rasa“. Princip Isaacova vysvětlení bionomie *Ceuth. pleurostigma*, tj. existence dvou biologicky odlišných vývojových cyklů, byl většinou pracovníků přijat a je dosud uznáván. Naproti tomu se neshodují názory pozdějších autorů na označení cyklů „rasami“ a na škodlivost jednotlivých cyklů v různých oblastech. Také Isaacův názor o jednom pokolení každého cyklu v roce nebyl dosud všeobecně přijat. Tak Balachowsky - Mesnil (1935) zavádějí označení „evoluční cyklus“ místo „rasa“ a vyslovují domněnku, že v jižní Evropě a v severní Americe má *Ceuth. pleurostigma* dvě pokolení v roce. Rostrop - Thomsen (1931), Madle (1936) a Günthart (1949) zjistili také škodlivost jarního cyklu na košťálovinách. Günthart (l. c.) používá pro vývojové cykly *Ceuth. pleurostigma* označení „kmeny“ („Frühlingsstamm, Herbststamm“), které přejali pozdější autoři. Pojmu „rasa“ by podle Güntharta bylo možno použít teprve tehdy, až by bylo pokusně ověřeno, že není možno změnit individua kmene jarního v kmen podzimní (a naopak) ani použitím zvláštních podmínek prostředí. Schrödter - Scheiding (1953) zjišťovali závislost intenzity náletu brouků na teplotě a vlhkosti vzduchu, na rychlosti větru a trvání slunečního svitu. Autoři také potvrdili, že pro zjišťování množství naletujících brouků jsou nejvhodnější žluté misky. Pietri - Tonelli (1950) zjistil u podzimního kmene krytonosce zelného klidové období imag v letních měsících a potvrdil tak pozorování, které učinil Isaac (1923). Ankersmit (1958) dokázal u podzimního kmene závislost vývoje ovocytů samic na délce světelného dne. Vývoj ovocytů probíhá příznivě pouze při fotoperiodách kratších než 16 hodin; samičky dozrávají za 24 dnů. Při delších fotoperiodách se vývoj ovocytů samic velmi prodlužuje (při dvacetihodinových fotoperiodách trvá již 95 dnů). Na podkladě svých experimentů vysvětluje autor letní klid podzimního kmene fotoperiodicitou samic. Scheidingová (1956) studuje vztah *Ceuth. pleurostigma* k živným a hostitelským rostlinám. Samice kladou přednostně vajíčka do rostlin toho druhu, na kterém se živily v larvální fázi. Od několika jedinců jarního kmene se prý podařilo vychovat dvě pokolení za rok.

Šedivý (1956) podává zprávu o vyzimování řepky v Československu v roce 1953/54, způsobeném krytonoscem zelným. Uhynutí rostlin vysvětluje namrznutím pletiva hálky, které má za následek její postupný rozpad a nákazu plísněmi, zachvacující i zdravé pletivo rostliny v blízkosti hálky. V práci zaznamenává také základní obranná opatření proti krytonosci zelnému (předseťový poprach HCH). Předběžné sdělení o výskytu podzimního a jarního kmene *Ceuth. pleurostigma* v Československu obsahuje autorova práce (Kazda, 1956). V další autorově práci (Kazda, 1958) jsou zaznamenány některé výsledky studia diapausy krytonosce zelného.

Jarní kmen krytonosce zelného ve středních Čechách

Bionomii tohoto kmene jsme podrobně sledovali v druhé polovině roku 1949 a během roku 1950.

V červenci roku 1949 jsme nacházeli velké množství příslušníků nového pokolení jarního kmene *Ceuth. pleurostigma* při úživném žíru na nejrůznějších ple-

velných i kulturních rostlinách z čeledi *Brassicaceae*. Z hospodářského hlediska byl tento žír bezvýznamný. Koncem června se množství brouků na rostlinách zmenšovalo, v druhé polovině srpna byly nálezy již jen ojedinělé. Současně jsme se zabývali průzkumem jeho zimního úkrytu. Jednotlivé krytonosce jsme nacházeli v hrabance na okraji lesíků a hájů již na počátku července, největší přírůstek jsme zjistili v první polovině srpna. V listnatých a smíšených lesních porostech byla imaga hojnější než v monokulturách jehličin. Pod osamělými keři a stromy byly nálezy ojedinělé.

Na jaře roku 1950 jsme našli první imaga krytonosce zelného při žíru na řepce 18. III. Samičky měly nedozrálá ovaria; ve vaječných trubcích se teprve počala oddělovat 1—2 budoucí vajíčka. Později jsme nacházeli brouky při zralostním žíru na různých brukvovitých rostlinách, zvláště na hořčici polní. Nejhojnější byli koncem dubna a na počátku května. Teprve za 6 týdnů po opuštění zimoviště počaly samičky s kladením vajíček. Množství vykladených vajíček se zvyšovalo do 10. V., pak následoval prudký pokles a po 20. V. nebylo nalezeno na rostlinách žádné nové vajíčko. Veškerá vajíčka byla vykladena během 20 dnů. Jejich vývoj trval v přirozených podmínkách 8 dní (při průměrné teplotě vzduchu 14⁰ C), vývoj larev 25 dní (při průměrné teplotě 16,5⁰ C). Nové pokolení imag začalo úživný žír 16. VI., tj. 18 dní po zakuklení (při průměrné teplotě vzduchu 20,2⁰ C). Množství jedinců nového pokolení dosáhlo maxima v posledním červnovém týdnu, v první polovině července se rychle snižovalo odlétáním brouků do zimoviště a po 15. VII. byly nálezy řídké. Proti roku 1949 odlétal krytonosce zelný do zimoviště o dva týdny dříve.

Převážnou většinu hálek *Ceuth. pleurostigma* jsme ve středních Čechách a v celém Polabí nacházeli na hořčici polní (*Sinapis arvensis* L.); ojediněle se vyskytovaly také na ohnici (*Raphanus raphanistrum* L.) a na vesnovce (*Cardaria draba* Desv.). Na kulturních brukvovitých rostlinách jsme háčky jarního kmene v této oblasti nezjistili.

Bionomická data o jarním kmenu, která jsme zde uvedli pro oblast středních Čech pro roky 1949 a 1950, vztahují se také na roky následující, tj. 1951—1958. Podle jarního počasí v tom kterém roce docházelo jen k časovým posunům ve výskytu a délce vývoje jednotlivých fází krytonosce zelného. Jeho množství se udržovalo přibližně na stejné výši. Také v jeho téměř úplné specializaci na hostitelskou rostlinu — hořčici polní — nedošlo k změnám. Během celého desetiletého období jsme jeho háčky na řepce ani na košťálovinách nenalezli.

V letech 1949—1953 jsme provedli také pokusy o umělé prodloužení letního úživného žíru imag nového pokolení přemístěním do houseníků k různě starým a rozdílně zavlažovaným rostlinám řepky, zelí a květáku. Brouci ukončili letní úživný žír ve všech případech přibližně ve stejné době jako v přirozených podmínkách. Také pokusy o trvalé přerušení klidu brouků, přenesených v podzimních měsících ze zimoviště do laboratorní teploty a umístěných do izolátorů s potravou, daly ve všech případech negativní výsledek. Z výsledků těchto pokusů soudíme, že vývoj jarního kmene *Ceuth. pleurostigma* je přerušen pravou imaginální diapausou ve fázi brouka (viz také K a z d a, 1958).

Podzimní kmen krytonosce zelného ve středních Čechách

Roku 1949, 1950 a 1951 jsme v okolí Prahy a v Polabské nížině nenalezli háčky podzimního kmene *Ceuth. pleurostigma* na ozimé řepce ani na košťálovinách, přestože jsme prohlíželi velké množství rostlin. Také na brukvovitých plevích nebyly háčky tohoto kmene.

Koncem února a v březnu 1952 jsme našli ojedinělé hálky na ozimé řepce v Čakovcích u Prahy a v Praze. Larvy v hálkách byly mladé a také velikost hálek a jejich vzhled naznačovaly, že zde krytonosce zelný vykládl vajíčka před krátkým časem. Nález několika samic při kladení tuto domněnku potvrdil. Na podzim roku 1952 bylo v porostech řepky již téměř 20 % rostlin s hálkami, na podzim roku 1953 byly hálky ve velkém počtu téměř na všech rostlinách řepky. Na jaře roku 1954 počalo pletivo hálek zahnívat; silněji napadené rostliny uhynuly. Krytonosce zelný se tak projevil jako jeden z původců vyzimování řepky v období 1953/54 a tím i jako jedna z příčin, proč muselo být mnoho porostů řepky na jaře roku 1954 zaoráno. Tento typ škody nebyl u nás do té doby nikdy pozorován a také zahraniční literatura se o něm nezmiňuje. Podrobněji se touto otázkou zabývá ve své práci Šedivý (1956).

V letech 1954–1957 byla vyšetřována řepka v středních Čechách každoročně napadena podzimním kmenem *Ceuth. pleurostigma*: průměrně z 20 %. V podzimních měsících minulého roku (1958) se stupeň napadení opět prudce zvýšil a v lednu roku 1959 bylo napadeno více než 90 % rostlin. Skutečnou škodu nemůžeme zatím vyhodnotit.

Na košťálové zelenině jsme v této oblasti hálky krytonosce zelného ve větším množství nezjistili v žádném z let 1949–1958. Krytonosce zelný se zde jako škůdce uplatňuje výhradně na řepce.

Výzkum krytonosce zelného v jižních Čechách

Souběžně s výzkumem v středních Čechách jsme sledovali výskyt a škodlivost krytonosce zelného v okolí Českých Budějovic a Veselí n. L. Tato oblast se od středočeské nížiny liší klimaticky i vlastnostmi půdy. Průměrné množství srážek je zde vyšší, teplota nižší; půda je méně úrodná, podzolovaná, s kyselejší reakcí než v středních Čechách. Význačným polním plevem z čeledi *Brassicaceae* je zde ohnice; hořčice polní se vyskytuje v jihočeské oblasti mnohem slaběji než v středních Čechách.

Na podzim roku 1949 jsme našli v Českých Budějovicích hálky *Ceuth. pleurostigma* na košťálovinách. Kapusta byla napadena z 10 %, u květáku a zelí 20 % rostlin. Na řepce jsme hálky nenalezli. V červnu roku 1950 byly košťáloviny silně napadeny také jarním kmenem *Ceuth. pleurostigma*. Na ohnici a hořčici polní byly hálky jen ojediněle. Na řepce nebyly hálky nalezeny vůbec. V srpnu téhož roku byly zjištěny opět hálky podzimního kmene v Českých Budějovicích a ve Veselí n. L. V Táboře jsme roku 1950 žádné hálky na košťálovinách ani na řepce nenalezli. O rok později, tj. v listopadu 1951, byly však dosti silně napadeny i košťáloviny v Táboře (květák, bílé i červené zelí, kapusta i modré brukve). V Českých Budějovicích bylo roku 1951 napadení silnější než v předcházejících letech. Ve Veselí bylo zimní zelí napadeno téměř stoprocentně. Koncem května 1952 jsme zjistili v Českých Budějovicích opět napadení košťáloviny jarním kmenem krytonosce. Na řepce nebyly žádné hálky, ohnice byla napadena asi z 10 %.

V dalších letech jsme kontrolovali v jižních Čechách pouze napadení rostlin podzimním kmenem *Ceuth. pleurostigma*. Hálky jsme nacházeli každoročně ve Veselí n. L. a v Českých Budějovicích; roku 1953 bylo napadení nejsilnější. Na ozimé řepce jsme našli hálky jen zcela ojediněle; také napadení ohnice a hořčice polní bylo vždy slabé.

Larvy podzimního kmene krytonosce z Veselí n. L. a košťály zelí s hálkami jsme použili k laboratorním a polním pokusům; jejich cílem bylo zjistit, je-li vývoj larev během podzimních a zimních měsíců přerušován fixovaným obdobím klidu

(tj. pravou diapausou) a zjistit případné morfologické či biologické rozdíly mladých imag podzimního kmene od prezimujících brouků jarního kmene.

V listopadu roku 1951 jsme položili larvy krytonosce, vypreparované z hálek, na vlhkou půdu v houseníku — vše v laboratorní teplotě. Larvy zalezly během půlhodiny do půdy. Za 36–40 dní vylézali z půdy mladí brouci (průměrná teplota vzduchu 17,5° C, maximum 26° C, minimum 14° C). Vylíhli krytonosci byli velmi živí již za poměrně nízké teploty. Po přemístění houseníku z venkovní teploty do laboratoře (z – 5° C do 18° C) vylézali z půdy již při teplotě půdy +2° C. Předloženou potravu normálně přijímali. Oběma těmito vlastnostmi se imaga podzimního kmene ostře lišila od příslušníků jarního kmene. Morfologické odchylky jsme mezi dospělci obou kmenů nezjistili.

Současné jsme provedli obdobný pokus s larvami ve venkovní teplotě na pokusné zahradě. Přes poměrně nízkou teplotu zalezly larvy do půdy také během necelé půlhodiny. Kolébku však vytvořily až počátkem března příštího roku; brouci nového pokolení vylézali z půdy v dubnu. Souběžně byl proveden pokusný chov larev v hálkách na vytažených košťálech zelí. Část košťálů byla vsazena do půdy, část položena na povrch půdy. V obou případech zůstaly larvy přes zimu v hálkách; do půdy zalézaly počátkem března příštího roku, zakuklily se a přibližně v téže době jako v předcházejícím pokusu vylézalo z půdy nové pokolení krytonosce. Z provedených pokusů vyplývá, že vývoj podzimního kmene *Ceuth. pleurostigma* je — na rozdíl od jarního kmene — zadržován v zimních měsících jen nízkou zimní teplotou, nikoliv fixovaným obdobím klidu (viz také K a z d a, 1958).

Záznamy o výskytu krytonosce zelného z jiných oblastí

V této části podáváme v stručném přehledu několik příležitostných pozorování krytonosce zelného z jiných míst Československa, které by mohly být vodítkem pro další výzkum tohoto nosatce.

V Bratislavě jsme zjistili v červnu roku 1952 přibližně 50 % brukví, kapusty a zelí s mohutnými hálkami *Ceuth. pleurostigma*. V hálkách byly dospělé larvy jarního kmene. V téže době nebyly zjištěny v oblasti Štúrova na kvěťáku žádné hálky. V okolí Nových Zámků byla napadena jarním kmenem dosti silně vesnovka. V srpnu téhož roku jsme prohlíželi zelinářské kultury v Podkrkonoší. Byly dosti silně napadeny krytonoscem zelným, zejména v Železném Brodě a v Semilech (kvěťák, zelí, tuřín). V některých hálkách byly mladé larvy, jiné byly již larvami opuštěny. Kolébky jsme pod rostlinami nenalezli. Také v Olomouci jsme roku 1952 zjistili na zelí hálky s mladými larvami, náležejícími patrně k podzimnímu kmenu. Slabší napadení kapusty a zelí podzimním kmenem krytonosce jsme zjistili v zimě roku 1952/53 též v Plzni (10–20 % rostlin).

Kalamitní napadení ozimé řepky podzimním kmenem krytonosce v zimním období 1953/54, které jsme popsali v předcházejících částech této práce, se neomezilo pouze na střední Čechy. Byly jím postiženy téměř všechny porosty řepky v Čechách a na Moravě; uvádíme např.: Nymburk, Roudnice, Dobříš, Domažlice, Jaroměř, Temenice na Moravě.

V květnu—červnu 1958 jsem se zúčastnil vědecké expedice do Rumunské lidové demokratické republiky. Hálky jarního kmene *Ceuth. pleurostigma* jsem našel pouze na brukvovitých plevelích, na hořčici polní a ohnici. Podle sdělení rumunských fytopatologů je v Rumunsku škodlivý pouze podzimní kmen, především na košťalovinách.

Diskuse

Materiál o výskytu a škodlivosti krytonosce zelného v středních a jižních Čechách, uvedený v předcházejících částech této práce, poskytuje dosti podkladů pro určení některých základních bionomických vlastností tohoto škůdce v obou studovaných oblastech. V středních i jižních Čechách existují vedle sebe jarní i podzimní kmen *Ceuth. pleurostigma*; v jejich bionomických a ekologických vlastnostech však nacházíme určité rozdíly. Týkají se zvláště volby hostitelských rostlin, kolísání populační hustoty a s tím souvisejícího napadání kulturních brukvovitých rostlin.

V teplejší a sušší oblasti středních Čech s úrodnou hnědozemí žije jarní kmen krytonosce zelného téměř výlučně na plevelné hořčici polní. V jeho množství v různých letech nepozorujeme větší kolísání. Kulturní rostliny zde jarním kmenem prakticky vůbec nejsou napadány; lze říci, že v přítomné době není nutno řadit jarní kmen krytonosce zelného v středních Čechách mezi škůdce. Svými vlastnostmi se tento kmen zdá být identický i Isaacovou „jarní rasou“ („Spring race“). Podzimní kmen žije v této oblasti téměř výlučně na ozimé řepce. Množství hálek se může v jednotlivých letech extrémně lišit: od prakticky nezjistitelného stavu až do masového napadení. Za určitých podmínek počasí se může krytonosec zelný projevit jako skutečný kalamitní škůdce.

Na podzolaných půdách chladnější a vlhčí oblasti jižních Čech žijí larvy obou kmenů krytonosce převážně na košťálové zelenině, v mnohem menší míře na plevelích z čeledi *Brassicaceae*. Zvláště podzimní kmen se tam vyskytuje na košťálovinách každoročně ve značném množství.

Specializace jednotlivých kmenů na určité hostitelské rostliny je nejnápadnější v středních Čechách, kde se každoročně pěstují ve značném množství rané, letní i podzimní košťáloviny a mladé rostliny jsou na polích v období kladení vajíček jarním i podzimním kmenem *Ceuth. pleurostigma*. Přesto zde vykládá krytonosec vždy daleko největší množství vajíček na jaře do hořčice polní, v létě a na podzim do řepky. V jihočeské oblasti je tomu opačně. Přestože se zde pěstuje dosti ozimé řepky, nacházíme hálky s larvami krytonosce zelného v převážné míře na košťálovinách, zvláště u podzimního kmenu. Příčiny této specializace jednotlivých kmenů v obou oblastech se nám dosud nepodařilo vyřešit. Určité vysvětlení by mohly dát výsledky pokusů, které provedla Scheidingová (1956). Dokazuje v nich, že samice krytonosce zelného kladou vajíčka přednostně do těch druhů a odrůd rostlin, v kterých žily v larvální fázi. V souhlasu s tím je představitelné, že pravidelným kladením vajíček na rostlinu, která je v dané oblasti přítomna každoročně ve značném množství, může postupně dojít k dědičně fixované specializaci na určitou hostitelskou rostlinu. Tuto možnost je ovšem třeba prověřit experimentálně, zvláště z toho důvodu, že jde o populace geograficky velmi blízké (100–200 km).

Ještě obtížnější je vysvětlení příčin prudkého kolísání populační hustoty podzimního kmenu v středních Čechách. Jak je uvedeno vpředu, nezjistil jsem na řepce v této oblasti v letech 1949–51 ani při velmi podrobných kontrolách žádné hálky s larvami podzimního kmenu. O tři roky později byly však rostliny totálně napadeny a došlo i ke značným škodám. Prvořadá je otázka, zda šlo o populaci místní nebo o jedince, kteří přilétli z jiné oblasti. Druhá možnost se zdá být pravděpodobnější: imaga podzimního kmene i hálky (byly vesměs s velmi mladými larvami) jsem v pražském okolí zjistil teprve na sklonku zimy, tj. v únoru 1952. Místní populace by byla jistě vyvolala hálky již na podzim 1951. Málo pravděpodobná je možnost, že by šlo o druhé pokolení jarního kmene krytonosce zelného

(uvádím ji jen pro úplnost). Při soustavně prováděných kontrolách zimovišť jarního kmene jsem nezjistil žádné mimořádné úbytky přezimujících imag, jak by bylo nutno očekávat, kdyby část brouků odlétla ze zimoviště. Ovaria samic zůstala během celého období přezimování nevyzrálá. Také celkový vzhled imag *Ceuth. pleurostigma*, chycených na řepce v únoru 1952, dokazoval jejich dlouhou aktivitu v přirozených podmínkách. Brouci měli špinavě černý povrch těla, šupinky a chloupky odřené, což svědčí vždy o jejich dlouhém pobytu na poli. Nepodarilo se mi však zjistit, odkud pocházela imaga tohoto kmene.

Závažným biologickým problémem zůstává možnost přeměny jarního kmene krytonosce zelného v kmen podzimní (a opačně). S tím úzce souvisí i otázka možných dvou pokolení v roce. Výsledky mých pokusů s jarním kmenem ze středních Čech a s podzimním kmenem z jižních Čech svědčí pro jednu generaci v roce a tím i pro nemožnost přeměny jednoho kmene v druhý v přírodních podmínkách. Scheidtingová (1956) sice sděluje, že se od několika jedinců *Ceuth. pleurostigma* podařilo získat v pokuse dvě pokolení za rok, neuvádí však data o počtu těchto jedinců (ani v procentech) a z popisu pokusu vyplývá, že výchozí materiál (larvy z rostlin) byl odebrán příliš časně na jaře, takže není vyloučeno, že v hálkách byly ještě larvy podzimního kmene z vajíček vykladených na sklonku zimy, např. v únoru. Autorka se sama vyjadřuje o výsledku svého pokusu velmi opatrně; domnívá se, že k druhé generaci dochází v přirozených podmínkách jen zcela výjimečně.

Dobré předpoklady pro vyřešení problému vývojových cyklů *Ceuth. pleurostigma* poskytují výsledky práce, kterou publikoval Ankersmit (1958). Autor v ní experimentálně prokázal závislost dospívání ovocytů samic na délce světelného dne. Význam fotoperiodicity pro hmyz dokázal na několika družích kříšů již Müller (1955, 1958). Z prací obou autorů vyplývá, že také u krytonosce zelného by mohlo studium fotoperiodicity přinést konečné rozřešení problému vzájemné přeměny jednotlivých kmenů a vnést jasno i do počtu generací toho kterého kmene.

Nelze podceňovat ani další výzkum geografického rozšíření jednotlivých kmenů *Ceuth. pleurostigma* se současným studiem jeho hostitelských rostlin. Platí to zvláště pro území Československa, které je klimaticky dosti rozmanité a kde i poměrně málo vzdálené oblasti (např. střední a jižní Čechy, severní a jižní Morava a zvláště různá místa na Slovensku) mohou ukázat odlišný vliv na bionomii krytonosce zelného. Komplexní řešení z celostátního hlediska by mohlo vést bez složitých experimentů k definitivnímu vyřešení těchto vědecky i prakticky velmi významných problémů z bionomie a ekologie *Ceuth. pleurostigma*. Jde sice o škůdce u nás v některých oblastech méně významného, ale v některých letech naopak velmi nebezpečného (např. 1953–54), jehož bionomii je nutno poznat důkladněji, abychom získali dobré podklady pro preventivní ochranu kultur, zvláště v oblasti prognosy jeho výskytu.

Souhrn

V letech 1949–1958 byl sledován výskyt a škodlivost krytonosce zelného v středních a jižních Čechách. V obou oblastech existují vedle sebe jarní i podzimní kmen *Ceuthorrhynchus pleurostigma*. V středních Čechách žije jarní kmen pouze na hořčici polní; na řepce ani na košťalovinách neškodí. Podzimní kmen žije v této oblasti na ozimé řepce; v některých letech může způsobit vážné ztráty na přezimujících rostlinách. Stupeň napadení se v jednotlivých letech velmi liší:

roku 1949–1951 nebyly jeho háčky na řepce v pražském okolí a v Polabí nalezeny, roku 1952 bylo téměř 20 % rostlin s háčkami a v zimním období 1953/54 byly háčky ve velkém počtu téměř na všech rostlinách řepky. Na jaře roku 1954 počalo pletivo hálekat zahánvat a mnoho rostlin uhynulo. V letech 1954–57 byly porosty řepky napadeny v středních Čechách průměrně z 20 % (na podzim). V zimním období 1958/59 bylo zde napadeno opět více než 90 % rostlin.

Na podzolovaných půdách chladnější a vlhčí oblasti jižních Čech žijí larvy obou kmenů krytonosce zelného převážně na košťálové zelenině, v mnohem menší míře na plevelích z čeledi *Brassicaceae*. Zvláště podzemní kmen se zde vyskytuje na košťálovinách každoročně ve značném množství (nejsilnější napadení zjištěno roku 1953 na zeli ve Veselí n. L.). Na ozimé řepce byly háčky *Ceuth. pleurostigma* nalezeny v jižních Čechách velmi řídké.

Z výsledků desetiletého studia krytonosce zelného v přirozených podmínkách, doplněného experimenty s přezimujícími brouky jarního kmene a larvami kmene podzemního, usuzuje autor, že oba kmeny *Ceuth. pleurostigma* mají v Československu po jedné generaci v roce a že v přirozených podmínkách normálně nedochází k změnám jednoho kmene v druhý.

Literatura

1. Ankersmit G. W.: Over de invloed van de fotoperiode op de jaarcyclus van de koolgalsnuitkever, *Ceuthorrhynchus pleurostigma* Marsham. Tijdschr. over Plantenziekten 64, 123, 1958. — 2. Balachowsky A., Mesnil L.: Les insectes nuisibles aux plantes cultivées. Paris, 1936. — 3. Curtis J.: Farm insects. London, 1860. — 4. Gallus E.: Zur Naturgeschichte des Rapsglanzkäfers *Meligethes (Nitidula) aeneus* F. Ann. Landw. Wbl. 6, 56–58, 1866. — 5. Günthart E.: Beiträge zur Lebensweise und Bekämpfung von *Ceuthorrhynchus quadridens* Panz. und *Ceuthorrhynchus napi* Gyll. mit Beobachtungen an weiteren Kohl- und Rapsschädlingen. Mitt. Schweiz. Ent. Ges. 22, 441–592, 1949. — 6. Isaac P. V.: The Turnip Gall Weevil, *Ceuth. pleurostigma* Marsh. Ann. Appl. Biol. 10, 151–193, 1923. — 7. Kaltenbach J. H.: Die Pflanzenfeinde aus der Klasse der Insekten. Stuttgart, 1874. — 8. Kaufmann O.: Beobachtungen und Versuche zur Frage der Überwinterung u. Parasitierung von Ölfruchtschädlingen aus den Gattungen *Meligethes*, *Phyllotreta*, *Psylliodes* und *Ceuthorrhynchus*. Arb. Biol. Reichsanstalt 12, 109–169, 1925. — 9. Kazda V.: Die in der Tschechoslowakei den Kohl- und Rapspflanzen schädlichen Rüsselkäfer, unter besonderer Berücksichtigung des *Ceuthorrhynchus napi* Gyll. Meded. van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent 21, 411–420, 1956. — 10. Kazda V.: Příspěvek k poznání diapauzy krytonosců, škodicích na kulturních rostlinách brukvovitých: *Ceuthorrhynchus napi* Gyll., *Ceuthorrhynchus quadridens* Panz. a *Ceuthorrhynchus pleurostigma* Marsh. (Beitrag zur Kenntnis von Diapause der den Kohl- und Rapspflanzen schädlichen Rüsselkäfer: *Ceuthorrhynchus napi* Gyll., *Ceuth. quadridens* Panz. und *Ceuth. pleurostigma* Marsh.) Acta Soc. Ent. Českosloveniae 55, 142–149, 1958. — 11. Madle H.: Beobachtungen an *Ceuthorrhynchus pleurostigma* Marsh. und *C. quadridens* Panz. im Gemüsebaubereich Zittau im Sommer 1934. Z. f. Pflanzenkrankh. 45, 478–498, 1935. — 12. Müller H. J.: Die Bedeutung der Tageslänge für die Saisonformenbildung der Insekten, insbesondere bei den Zikaden. Bericht 7. Wandervers. Dtsch. Entomol. Berlin 1954. 102–120, 1955. — 13. Müller H. J.: Über den Einfluß der Photoperiode auf Diapause und Körpergröße der Delphacide *Stenocranus minutus* F. Zool. Anzeiger 160, 294–312, 1958. — 14. Pietri-Tonelli P.: Contributo alla conoscenza della biologia del *Ceuthorrhynchus pleurostigma* Marsh. Redia 35, 85–128, 1950. — 15. Rostrup S. — Thomsen M.: Die tierischen Schädlinge des Ackerbaues. Berlin, 1931. — 16. Schauffuss C.: Calwer's Käferbuch. Stuttgart, 1916. — 17. Scheiding U.: Untersuchungen zur Biologie des Kohlgallenrüsslers *Ceuthorrhynchus pleurostigma* Marsh. Ztschr. angew. Ent. 39, 186–228, 1956. — 18. Schmidt H.: Notizen zur Biologie unserer gallenbildenden Rüsselkäfer. Ent. Rundschau 27, 137–138, 1910. — 19. Schrödter H. — Scheiding U.: Die Abhängigkeit der Aktivität des Kohlgallenrüsslers (*Ceuthorrhynchus pleurostigma* Marsh.) von klimatischen Faktoren. Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzd. n. F. 7, 143–148, 1953. — 20. Šedivý J.: Vyzimování řepky způsobené krytonoscem zelným (*Ceuthorrhynchus*

pleurostigma Marsh.). Sborník ČSAZV, Rostl. výr. 29, 1253-1260. — 21. Taschenberg E. L.: Naturgeschichte der wirbellosen Tiere, die in Deutschland sowie in den Provinzen Preußen und Posen den Feld-, Wiesen- und Weide-Kulturpflanzen schädlich werden. Leipzig, 1865.

К вопросу изучения жизни скрытохоботника капустного (*Ceuthorrhynchus pleurostigma* Marsh.) в Чехословацкой республике

В работе подытожены результаты исследования появления и вредности скрытохоботника *Ceuthorrhynchus pleurostigma* Marsh. в климатически различных областях средней и южной Чехии, проводимого в период 1949—1958 годов. В обеих исследованных областях были обнаружены весенний и осенний виды *Ceuth. pleurostigma*. В их экологических свойствах были, однако, установлены определенные различия, относящиеся особенно к выбору растений-хозяев, к колебанию популяционной густоты в разные годы и к связанному с этим поражению культурных растений из семейства *Brassicaceae* (прежде называемого *Cruciferae*).

В более теплой и засушливой области средней Чехии с плодородным буроземом живет весенний вид *Ceuth. pleurostigma* почти исключительно на *Sinapis arvensis* L. Ни на рапс, ни на кочанные культуры он не нападает. Своими свойствами он кажется идентичным со „Spring gase“ Изака. В его численности в различные годы не наблюдалось более существенного колебания. Осенний вид живет в средней Чехии на озимом рапсе. Степень поражения в отдельные годы существенно меняется: в период 1949—1951 гг. в окрестностях Праги и в Полабье его галлы не были обнаружены, в 1952 году почти 20 % растений было с галлами, а в зимний период 1953/1954 г. галлы были в большом количестве почти на всех растениях рапса. При холодной и сырой погоде в начале весны 1954 года ткани галлов начали гнить и много растений погибло. *Ceuth. pleurostigma*, таким образом, проявился в качестве одного из возбудителей вымерзания рапса в период 1953/54 г. и, следовательно, оказался одной из причин, почему весной часть рапсовых посевов было запахано. Рапс, посеянный в 1954-1957 годы в средней Чехии ежегодно подвергался нападению осенним видом *Ceuth. pleurostigma*, в среднем на 20 %. В осенние месяцы степень поражения опять резко увеличилась; в январе 1959 года было поражено свыше 90 % растений. На кочанных овощных культурах в данной области галлы этого скрытохоботника не были в большем количестве обнаружены ни в одном году за период 1949—1958 гг. *Ceuth. pleurostigma* здесь в качестве вредителя является исключительно только на рапсе. Специализация отдельных видов на определенные растения-хозяева в средней Чехии тем характернее, что здесь ежегодно в значительном количестве возделываются ранние, летние и осенние кочанные овощные культуры и молодые растения находятся в поле в период кладки яиц весенним и осенним видами *Ceuth. pleurostigma*. Несмотря на это, этот скрытохоботник здесь положил всегда преобладающее количество яиц в *Sinapis arvensis* весной (весенний вид), в рапс летом и осенью (осенний вид).

На подзолистых почвах более холодной и влажной области южной Чехии живут личинки весеннего и осеннего видов в основном на кочанных овощных культурах, в значительно меньшей мере на сорняках из семейства *Brassicaceae*. На озимом рапсе, который в южной Чехии также возделывается в значительном объеме, были галлы *Ceuth. pleurostigma* обнаружены лишь изредка.

Из результатов десятилетнего изучения *Ceuth. pleurostigma* в естественных условиях, дополненного экспериментами с зимующими жуками весеннего вида и с личинками осеннего вида (К а з д а, 1958), автор делает заключение, что оба вида *Ceuth. pleurostigma* имеют в Чехословакии по одной генерации за год и что в природных (полевых) условиях не наступают перемены одного вида в другой.

Beitrag zur Erkenntnis der Biologie des Kohlgallenrüßlers (*Ceuthorrhynchus pleurostigma* Marsh.) in der Tschechoslowakei

In der vorliegenden Arbeit sind die Ergebnisse von Untersuchungen über das Auftreten und die Schädlichkeit des Rüsselkäfers *Ceuthorrhynchus pleurostigma* Marsh. in den klimatisch unterschiedlichen Gebieten von Mittel- und Südböhmen in den Jahren 1949 bis 1958 zusammengefaßt. In beiden untersuchten Gebieten wurden die Frühjahrs-

und Herbststämme des *Ceuthorrhynchus pleurostigma* vorgefunden. In ihren ökologischen Eigenschaften wurden jedoch gewisse Unterschiede festgestellt, insbesondere in bezug auf die Wahl der Wirtspflanzen, Schwankungen der Populationsdichte in den verschiedenen Jahren und auf den damit in Zusammenhang stehenden Befall der Nutzpflanzen der Gattung *Brassicaceae* (früher *Cruciferae*).

Im wärmeren und trockeneren Gebiet Mittelböhmens mit fruchtbarer Braunerde lebt der Frühjahrsstamm des *Ceuthorrhynchus pleurostigma* fast ausschließlich auf *Sinapis arvensis* L. Er befällt weder Raps- noch Kohlpflanzen. In seinen Eigenschaften scheint er mit Isaac's "Spring race" identisch zu sein. In bezug auf die Menge seines Auftretens in den verschiedenen Jahren wurden keine großen Schwankungen beobachtet. Der Herbststamm lebt in Mittelböhmen auf Winterraps. Der Befallsgrad schwankt in den einzelnen Jahren bedeutend: 1949 bis 1951 wurden keine Gallen des Kohlgallenrüsslers in der Umgebung von Prag und im Elbtal vorgefunden, im Jahre 1952 wurden an beinahe 20 % der Pflanzen und im winterlichen Zeitabschnitt 1953/1954 auf beinahe allen Rapspflanzen Gallen des Rüsselkäfers in einer hohen Anzahl vorgefunden. Bei kühlem und feuchtem Wetter zu Beginn des Frühjahrs 1954 begann das Gallengewebe zu faulen und viele Pflanzen gingen zugrunde. Im Zeitabschnitt 1953/54 erwies sich der *Ceuthorrhynchus pleurostigma* auf diese Weise als einer der Urheber der Auswinterung des Rapses und als eine der Ursachen der Notwendigkeit, einen Teil der Bestände im Frühjahr einzuackern. Durchschnittlich 20 % des in den Jahren 1954 bis 1957 ausgesäten Rapses wurden in Mittelböhmen alljährlich vom Herbststamm des *Ceuthorrhynchus pleurostigma* befallen; in den Herbstmonaten verstärkte sich der Befallsgrad neuerlich plötzlich; im Januar 1959 waren mehr als 90 % der Pflanzen befallen. Auf Kohl-(Strunk-)gemüse wurden die Gallen dieses Rüsselkäfers in keinem der Jahre 1949 bis 1958 in größerer Menge vorgefunden. *Ceuthorrhynchus pleurostigma* tritt hier ausschließlich als Rapschädling auf. Die Spezialisierung der einzelnen Stämme auf gewisse Wirtspflanzen ist in Mittelböhmen um so auffallender, als hier alljährlich Früh-, Sommer- und Herbst-Kohlgemüse in großer Menge angebaut wird und die jungen Pflanzen auf den Feldern im Zeitabschnitt der Eiablage vom Frühjahrs- und Herbststamm befallen werden. Trotzdem legt der *Ceuthorrhynchus* hier stets eine weitaus größere Eiermenge in *Sinapis arvensis* im Frühjahr (Frühjahrsstamm), in den Raps im Sommer und Herbst (Herbststamm) ab.

Auf podsolierten Böden im kühleren und feuchteren Gebiet Mittelböhmens leben die Larven des Frühjahrs- und Herbststammes vorwiegend auf Kohlgemüse, in weitaus geringerem Maße auf Unkräutern der Familie *Brassicaceae*. Auf Winterraps, der in Südböhmen auch ziemlich stark angebaut wird, wurden Gallen des *Ceuthorrhynchus pleurostigma* selten vorgefunden.

Auf Grund der Ergebnisse des zehnjährigen Studiums des *Ceuthorrhynchus pleurostigma* in natürlichen Bedingungen, das durch Experimente mit überwinternden Käfern des Frühjahrsstammes und Larven des Herbststammes vervollständigt wurde (Kazda, 1958) zieht der Autor die Schlußfolgerung, daß beide Stämme des *Ceuthorrhynchus pleurostigma* in der ČSR jährlich je 1 Generation entwickeln und daß in natürlichen (Feld-)Verhältnissen kein Wechsel eines Stammes in den anderen erfolgt.

Vliv některých faktorů na projev antibiotické aktivity aktinomycet na agarových plotnách

Влияние некоторых факторов на проявление антибиотической активности
актиномицетов на агаровых пластинках

Einfluß einiger Faktoren auf das Auftreten der antibiotischen Aktivität der Aktino-
myzeten auf Agarplatten

Zdeněk ŘEHÁČEK

Biologický ústav ČSAV, mikrobiologické oddělení

Došlo dne 17. VI. 1958

Úvod

Většina metodik pro zjišťování antibiotického spektra aktinomycet je založena na difúzi antibiotika, produkovaného antagonistou do agarové živné půdy, a na stanovení účinku této látky na testovací mikroorganismus. V uvedené práci jsme vycházeli z poznatku, že mikroorganismy tvoří antibiotika pouze v určitých podmínkách svého růstu, a že produkce antibiotik v umělých podmínkách je značně ovlivněna kvalitou a množstvím dostupných živin (Nickell a Burkholder, 1947, Gottlieb a Šiminoff, 1952, Thornton a Skinner, 1953). Zaměřili jsme se na sledování některých základních faktorů ovlivňujících antibiotický projev aktinomycet na tuhých půdách, a to s ohledem na možnosti uplatnění získaných výsledků při stanovení antibiotických spekter rozsáhlých souborů čerstvě izolovaných aktinomycet. Zhodnocení jednotlivých metodik pro stanovení prvního protimikrobního spektra a volbě, přípravě a kultivaci testovacích mikroorganismů jsme věnovali předcházející práci (Řeháček, 5 : 373, 1959).

Materiál a metody

Pro stanovení antibiotického projevu aktinomycet při různém pH jsme použili titračních ploten s pH gradientem. Při jejich přípravě jsme vyšli z prací Szybalského (1952) a Sackse (1956). Teoretické hodnoty pH dvou agarových vrstev (1,5 % agaru v destilované vodě) s různým obsahem fosfátů jsme vypočetli ze vzorce (Tomíček, 1941):

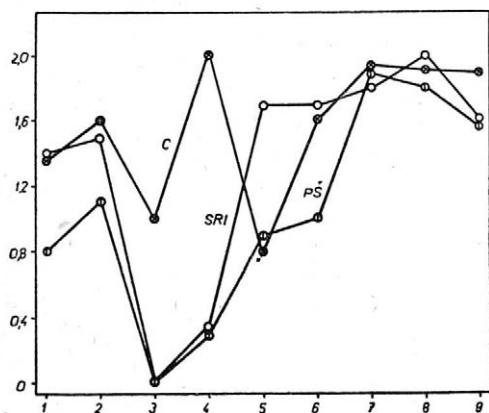
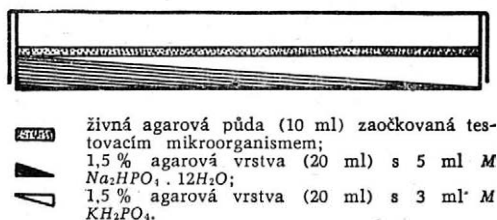
$$pH = p_k + \log \frac{c_s}{c_k}$$

v němž $p_k = -\log K_k$, K_k = disociační konstanta kyseliny, c_s = množství (ml) molárního roztoku středního fosforečnanu sodného a c_k = množství (ml) molár-

ního roztoku kyselého fosforečnanu draselného. Pro druhou sytnost kyseliny fosforečné platí $K_k = 2 \times 10^{-7}$; $p_k = 6,7$.

Agarové vrstvy s fosfáty jsme v Petriho misce o průměru 12 cm převrstvili vždy 10 ml živné agarové půdy, zaočkované testovacím mikroorganismem. Pracovali jsme s těmito mikrobi, získanými ze sbírek Biologického ústavu ČSAV:

Obr. 1. Titrační plotna s pH gradientem



Obr. 2. Antibiotický index aktinomycet vyrostlých na půdách SRI, PŠ a C.

Osa X: testovací mikroorganismy; osa Y: antibiotický index 69 kmenů antagonistických aktinomycet. 1 = *Micrococcus pyogenes*, var. *aureus*; 2 = *Bacillus subtilis*; 3 = *Bacterium coli*; 4 = *Serratia marcescens*; 5 = *Mycobacterium phlei*; 6 = *Mycobacterium phlei*, neacidorezistentní; 7 = *Candida albicans*; 8 = *Fusarium nivale*; 9 = *Penicillium restrictum*

Micrococcus pyogenes, var. *aureus* T-45/BU; *Bacillus subtilis* ATCC-6633; *Bacterium coli* T-185/BU; *Serratia marcescens* T-605/BU; *Mycobacterium phlei* K-005; *Mycobacterium phlei* neacidorezistentní (Hubáček a Málek, 1958); *Candida albicans* 44-SZÚ; *Fusarium nivale* Fi-19/BU; *Penicillium restrictum* BU. Konečné uspořádání agarových vrstev v Petriho misce znázorňuje obr. 1. Povrchové živné půdy a kulturační podmínky pro jednotlivé testovací mikroorganismy jsme připravovali stejným způsobem jako v předcházející práci (Reháček, 1958).

Ve ztuhlé titrační půdě se zaočkovanou vrchní vrstvou jsme pak sterilním korkovrtem o průměru 8 mm připravili celkem devět otvorů, z nichž jsme vždy tři umístili do pásma stejného pH. Do těchto otvorů jsme buď vkládali bločky agarové živné půdy SRI (Krasilnikov, 1950), PŠ (Ševčík, 1952), C (Ševčík, 1952) s vyrostlými aktinomycetami, nebo jsme do nich pipetovali po 0,1 ml roztoku antibiotika. Po zasazení agarových bločků do výřezů v titrační půdě byla maximální změna pH titrační půdy v okolí výřezů $\pm 0,2$. Z antibiotik jsme použili těchto preparátů: nystatin (Squibb), trichomycin (Fujisawa), aktidion (VÚA Roztoky), penicilin G-draselná sůl (Spofa), chloramfenikol (Parke, Davis), chlortetracyklin-hydrochlorid (Lederle), streptomycin-calciumchlorid (Glaxo), erythromycin-stearát (Abbott).

Výsledky a diskuse

Živné půdy pro antagonistické aktinomycety

Provedli jsme srovnání řady půd různého složení a na podkladě získaných výsledků jsme dospěli k závěru, že pro zjištění protimikrobního spektra aktinomycet bylo vhodné kultivovat zkoušené kmeny současně na syntetické půdě SRI

a na komplexních půdách PŠ a C. Vliv těchto půd na průměr inhibice jednotlivých testovacích mikroorganismů 69 antagonistickými aktinomycetami, tj. vliv na antibi-
 otický index aktinomycet (L a n d e r k i n se spol., 1950), jsme znázornili v obr.
 2. Z něho vyplývá, že námi použité komplexní živné půdy nebyly, na rozdíl od
 výsledků R o u a t t a se spol. (1953), pro produkci antibiotických látek ve všech
 případech vhodnější než syntetická půda SRI. Půda C umožnila zachytit antibio-
 tický účinek aktinomycet zejména proti zástupcům gram pozitivních a gramnega-
 tivních bakterií. Půda SRI byla však příznivá pro projevení aktivity aktinomycet
 proti zástupcům mykobakterií, a také pro zachycení antibiotického účinku proti
 ostatním testovacím mikroorganismům byla vhodnější než půda PŠ. Stupeň proti-
 houbového účinku nebyl kultivací aktinomycet na uvedených půdách podstatně
 ovlivněn.

Titrační plotny s pH gradientem

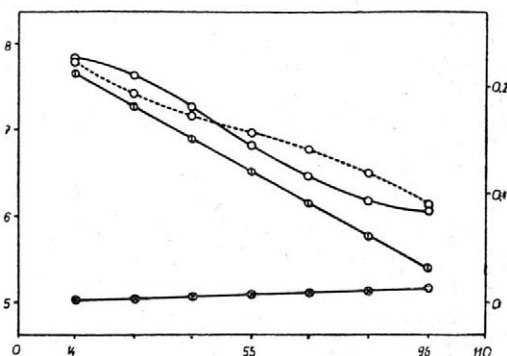
Reakce prostředí, při níž stanovujeme antibi-
 otický účinek, je jedním z důle-
 žitých činitelů, kterým může být projev aktivity antibiotické látky značně ovlivněn.
 Vhodnými pro sledování vlivu pH na antibi-
 otický projev aktinomycet se ukázaly
 agarové plotny s pH gradientem. Podle propočtu byl pro získání pH gradientu
 agarové vrstvy v Petriho misce vhodný molární roztok středního fosforenanu
 sodného přidán v množství 5 ml do 15 ml základní agarové vrstvy a molární
 roztok kyselého fosforečnanu draselného přidán do 17 ml povrchové agarové
 vrstvy v množství 3 ml. Při praktickém ověřování jsme dospěli k analogickým
 závěrům, jak je patrné z obr. 3. Na alkalické straně bylo naměřené pH
 maximálně o 0,2 vyšší, na kyselé straně bylo maximálně o 0,3 nižší než

Obr. 3. Hodnoty pH v titrační plotně
 s různým obsahem fosfátů

Osa X: vzdálenost místa měření pH od okra-
 je Petriho misky (mm); osa Y: a) výsledné
 pH , b) množství (ml) molárního roztoku
 fosfátů v ml agarové vrstvy.

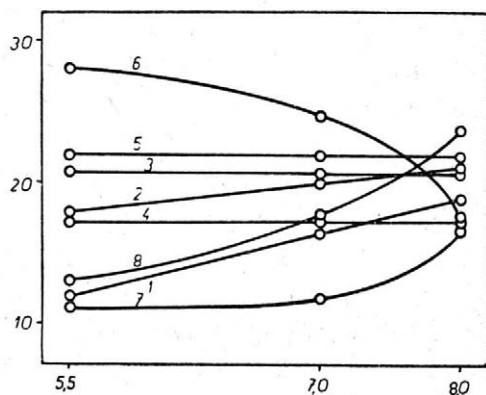
- — ○ pH vypočtené;
- — ○ pH naměřené na radiometru (Schwabe 1953);
- ⊖ ⊖ $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$;
- ⊕ ⊕ KH_2PO_4 .

Poznámka: Údaje se vztahují na agarové
 vrstvy (po 20 ml), z nichž základní vrstva
 obsahuje 0,25 ml $M Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ v ml
 a povrchová 0,13 ml $M KH_2PO_4$ v ml



Obr. 4. Vliv pH na velikost inhibičních zón
 vytvořených účinkem standardů různých
 antibiotik.

Osa X: pH ; osa Y: inhibiční zóny (průměr
 v mm). 1 = nystatin (50 j./ml); 2 = tri-
 chomycin (12 j./ml); 3 = aktidion (500 μg /
 ml); 4 = penicilin (1 j./ml); 5 = chlor-
 amfenikol (50 μg /ml); 6 = chlortetra-
 cyklin (2 μg /ml); 7 = streptomycin (20
 μg /ml); 8 = erythromycin (1 μg /ml)



pH teoretické. Hodinová inkubace ploten v lednici byla pro ustálení výsledného *pH* dostatečná: ve směru vertikálním bylo pak *pH* shodné, měnilo se pouze ve směru souběžném se změnou obsahu fosfátů, tj. klesalo se vzdáleností místa měření od okraje titrační plotny. Ovlivnění konečného *pH* agarových vrstev převrstvením živnou agarovou půdou zaočkovanou testovacím mikroorganismem bylo neplatné (tab. I).

I. Výsledné *pH* titračních ploten s fosfáty, převrstvených některými živnými půdami

Živná agarová půda	Vzdálenost místa měření (mm) od okraje Petriho misky				
	14	34	55	76	96
Masopeptonový agar	7,82	7,38	6,72	6,33	6,27
Půda pro mykobakterie (Difco Manual 1953)	8,02	7,36	6,79	6,13	5,98
CA (Řeháček, 1958)	7,86	7,32	6,81	6,19	6,07
Sabouraudův agar	7,91	7,25	6,9	6,38	6,26
Kontrola	7,82	7,51	6,81	6,30	6,09

Vliv *pH* titračních ploten na antibiotický projev aktinomycet

Vliv *pH* na velikost inhibičních zón, vyvolaných účinky standardů různých antibiotik, jsme znázornili v obr. 4. Inhibiční zóny vytvořené účinkem antibiotik zásaditého charakteru, tj. streptomycinu a erythromycinu, byly excentrické, měly vejčitý tvar — jejich rozměry vzrůstaly se stoupajícím *pH* titrační plotny; dráha difúze těchto antibiotik byla delší při zásaditém *pH*. Také pro difúzi polyenových antibiotik, trichomycinu a nystatinu, bylo vhodnější alkalické prostředí, i když rozdíly v rozměrech inhibičních zón z kyselé a alkalické oblasti titrační půdy nebyly tak výrazné jako v případě streptomycinu a erythromycinu. Testovací mikroorganismus *Fusarium nivale* tvořil v kyselém prostředí titrační plošiny na obvodu inhibičních zón, vyvolaných účinkem trichomycinu nebo nystatinu, červený chromoparní pigment, který se účinkem silných kyselin odbarvoval. V alkalickém a neutrálním prostředí rostl uvedený mikrob bez pigmentu. Kolem inhibičních zón vznikaly prstence stimulace růstu testovacího mikroorganismu. Lze předpokládat, že kromě možné stimulace růstu podprahovými koncentracemi antibiotik se tu uplatnila zejména difúze živin. Antifungální projev aktidionu nebyl reakcí titrační půdy ovlivněn a *Fusarium nivale* netvořilo v jeho přítomnosti pigment. Stejný zjev jsme zjistili u phenylmerkuriborátu, methylesteru kyseliny paraoxybenzoové a 8-hydroxychinolin-síranu. Také difúze penicilinu a aktidionu nebyla reakcí agarové půdy ovlivněna. Pravidelné inhibiční zóny, vytvořené účinkem těchto látek v oblastech různého *pH* titračních ploten, se nelišily ani tvarem ani velikostí. Působením chlortetracyklinu vznikaly excentrické inhibiční zóny obvejčitého tvaru, jejichž rozměry, na rozdíl od inhibičních zón, vyvolaných antibiotiky zásaditého charakteru, vzrůstaly s poklesem *pH* titrační plotny.

K analogickým závěrům jsme dospěli při sledování tvorby inhibičních zón účinkem čerstvě vyloučených antibiotik difundujících do titrační plotny z agarových bloků porostlých příslušnými produkčními aktinomycetami (tab. II).

Z uvedených výsledků vyplývá, že stanovení prvního protimikrobního spektra neznámé aktinomycety pouze při jednom *pH* může obraz o šíři a aktivitě její

II. Vliv titrační plotny na velikost inhibičních zón (mm), vyvolaných účinkem některých produkčních aktinomycet

Aktinomyceta	Produkované antibiotikum	Testovací mikro-organismus	pH agarové plotny		
			6	7	8
<i>S. griseus</i>	streptomycin	<i>Bacillus subtilis</i>	14	17	22
<i>S. lavendulae</i>	streptothricin	<i>B. subtilis</i>	11	13	18
<i>S. erythreus</i>	erythromycin	<i>B. subtilis</i>	22	26	31
<i>S. aureofaciens</i>	chlortetracyklin	<i>B. subtilis</i>	34	32	28
<i>S. antibioticus</i>	aktinomycin B (Ševčík se spol. 1958)	<i>B. subtilis</i>	25	25	25
<i>Streptomyces 943/BŮ</i> (Řeháček 1958)	heptaenového typu	<i>Candida albicans</i>	14	18	20

antibiotické látky často zkreslit. Shora popsáný postup umožňuje použitím titračních ploten s *pH* gradientem získat širší úvodní informace o neznámé antibiotické látce. Získané výsledky nasvědčují tomu, že rozdílného ovlivnění tvaru a velikosti inhibičních zón reakcí titrační plotny lze již v nejranější etapě výzkumu využít k orientační charakteristice některých fyzikálně chemických vlastností antibiotika produkovaného neznámou aktinomycetou do tuhé živné půdy.

Souhrn

U 69 kmenů antagonistických aktinomycet bylo zhodnoceno a zdůvodněno použití současné jejich kultivace na komplexní a na syntetické živné agarové půdě. V práci jsou dále uvedeny výsledky získané při přípravě titračních ploten s *pH* gradientem a při sledování vlivu *pH* těchto ploten na tvar a rozměry inhibičních zón. Bylo zjištěno rozdílné ovlivnění tvaru a rozměru inhibičních zón, vyvolaných účinkem antibiotik z různých skupin, reakcí titrační plotny. Výsledky nasvědčují tomu, že již v etapě stanovení prvního protimikrobního spektra lze uvedených poznatků využít k orientační charakteristice některých fyzikálně chemických vlastností antibiotické látky, produkované neznámou aktinomycetou do agarové půdy.

Účinkem polyenových antibiotik vznikaly inhibiční zóny, kolem kterých vytvářel testovací mikroorganismus *Fusarium nivale* v kyselé oblasti titrační plotny červený chromoparní pigment, odbarvující se účinkem silných kyselin.

Za laboratorní spolupráci děkuji L. Kubálové a V. Klicperové.

Literatura

1. Difco: Manual. Detroit 1953. — 2. Gottlieb, D., Siminoff, P.: The production and role of antibiotics in the soil. *Phytopathol.* 42:91, 1952. — 3. Hubáček, J., Málek, I.: Některé biologické a biochemické vlastnosti acidoresistentních a neacidoresistentních kmenů *Mycobacterium phlei*. *Čs. mikrobiol.* 3:32, 1958. — 4. Krasil'nikov, N. A.: Aktinomycety anagonisty i antibiotičeskiye včestva, Moskva 1950. — 5. Landerkin, G. B., Smith, J. R. G., Locchead, A. G.: A study of the

antibiotic activity of actinomycetes from soils of Northern Canada. Can. J. Res. 28 : 690, 1950. — 6. Nickell, L. G., Burkholder, P. R.: Inhibition of *Azotobacter* by soil actinomycetes. J. Am. Soc. Agr. 39 : 771, 1947. — 7. Rouatt, J. W., Lechevalier, M., Waksman, S. A.: Distribution of antagonistic properties among actinomycetes isolated from different soils. Antib. Chem. 1, 3 : 185, 1951. — 8. Řeháček, Z.: Stanovení prvního protimikrobního spektra aktinomycet. Rostl. výroba 5 : 373, 1959. — 9. Řeháček, Z.: Difúzní mikrobiologické titrace protihoubových antibiotik polyenového typu. Čs. mikrobiol. 3 : 128, 1958. — 10. Řeháček, Z.: Produkce antifungálního antibiotika nově izolovanou aktinomycetou. Čs. mikrobiol. 3 : 27, 1958. — 11. Sacks, L. E.: A pH gradient agar plate. Nature 178 : 269, 1956. — 12. Schwabe, K.: Fortschritte der pH-Meßtechnik, Berlin 1933. — 13. Szybalski, W.: Gradient plate technique for study of bacterial resistance. Science 116 : 46, 1952. — 14. Ševčík, V.: Růst a produkce antibiotik u *Streptomyces griseus* na pevných půdách. Čs. biol. 1 : 32, 1952. — 15. Ševčík, V., Podojil, M., Řiřicová A.: Laboratorní fermentační příprava aktinomycinu B aktinomycetou *S. antibioticus*. Čs. mikrobiol. 3 : 167, 1958. — 16. Thornton, H. G.: Skinner, F. A.: The interaction of actinomycetes with other microorganisms in soil. Symposium Actinomycetales. Roma 1953. — 17. Tomíček, O.: Potenciometrické titrace. Praha 1941.

Влияние некоторых факторов на проявление антибиотической активности актиномицетов на агаровых пластинках

У 69 штаммов антагонистических актиномицетов оценивалось и обосновывалось одновременное применение их культивации на комплексной и на синтетической агаровой питательной среде. Далее в работе приведены результаты, полученные при приготовлении пластинок для титрации с pH градиентом и при изучении влияния pH этих пластинок на форму и размеры ингибиционных зон. Установлено различное влияние на форму и размер ингибиционных зон, вызванных действием антибиотиков из разных групп и реакцией пластинок для титрации. Результаты свидетельствуют о том, что уже в этапе определения первого противомикробного спектра можно использовать приведенные данные для ориентировочной характеристики некоторых физико-химических свойств антибиотического вещества, производимого неизвестным актиномицетом в агаровой питательной среде.

Под действием полиеновых антибиотиков возникли ингибиционные зоны, вокруг которых образовал тестирующий микроорганизм *Fusarium nivale* в кислой области пластинок для титрации красный хромопарный пигмент, обесцвечивающийся под действием сильных кислот.

Einfluß einiger Faktoren auf das Auftreten der antibiotischen Aktivität der Aktinomyzeten auf Agarplatten

An 69 Stämmen antagonistischer Aktinomyzeten wurde die gleichzeitige Kultivierung derselben auf komplexem und synthetischem Agarnährboden bewertet und begründet. Ferner werden in der vorliegenden Arbeit die bei der Herstellung der Titrationsplatten mit dem pH-Gradienten und bei der Ermittlung des Einflusses des pH-Wertes dieser Platten auf die Form und Ausmaße der Inhibitionszonen erzielten Ergebnisse aufgeführt. Es wurde eine unterschiedliche Beeinflussung der Form und Ausmaße der durch die Wirkung der Antibiotika verschiedener Gruppen und durch die Reaktion der Titrationsplatte hervorgerufenen Inhibitionszonen festgestellt. Die Ergebnisse weisen darauf hin, daß bereits in der Etappe der Bestimmung des erster Antimikrobenspektrums die genannten Erkenntnisse zur orientierungsmäßigen Charakteristik einiger physikalisch-chemischen Eigenschaften des von dem unbekannten Aktinomyzet im Agarboden produzierten antibiotischen Stoffes verwendet werden können.

Durch die Wirkung der Polyen-Antibiotika entstanden Inhibitionszonen, in deren Umkreis der Test-Mikroorganismus *Fusarium nivale* im sauren Gebiet der Titrationsplatte ein rotes chromopares Pigment bildete, das durch den Einfluß starker Säuren entfärbt wird.

Doplňk k práci J. Zakopala a B. Spitzové: Příspěvek k otázce ras či biotypů (*formae speciales*) rakoviny bramborů *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. v Československu

K вопросу типов или биотипов (*formae speciales*) рака картофеля *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. в Чехословакии

Ergänzung zur Arbeit J. Zakopal u. B. Spitzová: Beitrag zur Frage der Rassen oder Biotypen (*formae speciales*) des Kartoffelkrebses *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. in der Tschechoslowakei

Inž. dr. Ctibor BLATTNÝ, odpovídající člen ČSAV

Biologický ústav ČSAV, oddělení fytopatologie

Ve Sborníku ČSAZV — Rostlinná výroba, 4 (XXXI), (9), 1958, pp. 999—1018 uveřejnili jmenovaní autoři práci, v níž docházejí k závěru, že v Československu existuje jen jediný biotyp rakoviny. Usuzují tak na základě rozsáhlých pokusů v letech 1952—1957 (a z malé části již od roku 1948) na pokusných polích v Hamru u Třeboně, ve Šluknově, v Dobřejovicích u Hluboké nad Vltavou, ve Velkých Karlovicích a ve Švermově. V těchto pokusech všechny (316) zkoušené odrůdy nevykazovaly takových rozdílů ve stupni napadení, že by mohlo být usuzováno na existenci různě agresivních biotypů. Praví dále, že o existenci jediného biotypu rakoviny bramborů u nás přesvědčuje i ta skutečnost, že nové odrůdy přezkoušené na vzdornost této chorobě pouze na jediném poli (čímž myslí pole šluknovské) vykazovaly po léta vzdornost na celém území Československa. Podle autorů o shodnosti našeho biotypu rakoviny bramboru s biotypy ostatních zemí mimo území Německa svědčí i to, že československé odrůdy vzdorné k rakovině jsou vzdorné ve všech zemích, kde byly až dosud pěstovány. Posléze autoři usuzují, že dahlemský biotyp rakoviny bramborů je shodný s našim. A že s velkou pravděpodobností též biotyp rakoviny bramborů je i v SSSR, Polsku, Rakousku, Holandsku, Belgii, USA, Velké Británii, Irsku, Norsku, Finsku, Itálii, Jugoslávii, Švýcarsku; podle uvedených autorů tomu nasvědčují i shodné údaje o vzdornosti a náchylnosti jednotlivých odrůd uvedených zemí k rakovině s výsledky našich zkoušek. Autoři uvádějí, že pouze u jediné odrůdy byly získány výsledky, které jsou v nesouhlasu s výsledky získanými v SSSR, a to u odrůdy *Cobbler*. *Cobbler* je u nás náchylný, zatímco v SSSR je vzdorný.

K tomu bych chtěl připojit tento doplněk, který z části obsahuje i to, co jsem uvedl ve svém referátu na příslušné konferenci svolané v listopadu 1958 Slovenskou akademií věd [Konference o rakovině zemiakov, Smolenice, 4.—7. XI. 1958, Sborník ČSAZV Rostlinná výroba 5 (XXXII), (9), 1959, 808—810].

První poznatky o možnosti existence různých biotypů původitele rakoviny

byly u nás získány v roce 1936. V laboratorních zkouškách podle Glynne-Lemmerzahla (užíval jsem při nich, používaje nepřetržité produkce letních sporangii, časné předklíčených *Erstlingů* jako výchozího materiálu) jsem tehdy pracoval s rakovinou různé provenience: ze Šluknova v severních Čechách a několika míst jižních Čech, zejména z Kaplicka, z pohoří v nejjižnějších Čechách. Paralelně prováděné inokulace u stejných kříženců přinášely v některých případech výsledky značně odlišné. V dalších letech jsem tyto pokusy prováděl záměrně. Mohl jsem proto v létě 1938 upozornit vynikajícího zahraničního specialistu, že mám důvodné podezření, že i původce rakoviny bramboru má různé biotypy (tenkrát se říkalo rasy), tak jako u jiných, výše organizovaných hub. Neuvěřilo se mi. V roce 1940 po dalších pokusech jsem nabyl jistoty a věc publikoval (viz citát v práci Zakopal-Spitzová). Krátce na to práci B r a u n o v o u (viz citát v práci Zakopal-Spitzová) se ukázalo, že biotyp, který jsme tehdy nazývali SB (pocházel z jižních Čech), pokud jde o jeho agresivnost vůči různým odrudám bramborů, se stavěl asi uprostřed mezi nejagresivnější, tehdy v Německu objevený typ giessübelický a mírný biotyp dahlemský, resp. mně známý, rovněž mírný biotyp našeho zkušební pole ve Šluknově, který jsme nazývali NB typem. Tento stav byl v letech 1936—1940. Změnil se v roce 1945.

V roce 1945 po znovunabytí našeho zkušební pole ve Šluknově jsem zařídil vzhledem k nutnosti mít všechny zkušební pole infikovaná stejně silným a na našem území jako nejsilnějším známým typem rakoviny, aby pokusné pole ve Šluknově v severních Čechách bylo zásobeno hojností rakovinných nádorů z jihočeského zkušební pole, na němž jsme měli rakovinu silnějšího SB typu. V letech 1945—1946 bylo proto šluknovské pole zásobeno několika metrickými centy nádorů rakoviny z jihočeského pole. Tím bylo šluknovské pole nakaženo tímto silnějším jihočeským typem. Poněvadž se mezitím a později ukázalo, že biotyp rakoviny též v celém karpatském oblouku (od Beskyd až po Karpaty v Rumunské lidové republice) je totožný s jihočeským typem SB, nebylo zapotřebí zkušební pole v Beskydách a na Slovensku (v Nízkých Tatrách) infikovat jihočeským typem. Zakopal a Spitzová, kteří experimentovali s rakovinou jihočeského a severočeského (šluknovského) původu až do roku 1952 tvrdí, že v Čechách, resp. v Československé republice je jen jediný biotyp rakoviny. Mají pravdu, pokud jde o nynější stav. Nemají pravdu, pokud jde o stav před rokem 1945. V oné době byly v Čechách 2 biotypy rakoviny. To ostatně potvrdil Bauer (viz Zakopal-Spitzová) a vypočítali Myslivec a Stone (1951).*)

Pole ve Šluknově bylo vědomě infikováno silnějším typem rakoviny. K zesílení nákazy došlo nákazou pole nádory rakoviny z jiné provenience, na níž měl biotyp rakoviny silnější virulenci. Podobná „křížení“ — používám tohoto vulgárního názvu, poněvadž mechanismus vzniku silnějšího biotypu nám není známý — vedla v jiných našich pokusech k tak silnému zesílení virulence, že ji bylo možno přirovnávat k virulenci nejsilnějšího německého biotypu. Nepochybuji, že i normálním vývojem dochází k vytváření nových v tom nebo onom směru silnějších a slabších biotypů: ani původce rakoviny není vyjmut ze všeobecného zákona změny a vývoje. Jasně by v tom mohl zjednat především experimentálně přivedený vznik nových biotypů.

Existence biotypů původce rakoviny bramborů byla dokázána pracemi, citovanými Zakopalem a Spitzovou a dalšími. Na tom nic nezmění úvahy o větší či menší měnlivosti fylogeneticky starších nebo mladších organismů.

*) V. Myslivec a B. Stone: Použití metody akad. A. N. Kolmogorova a N. V. Smirnova v zemědělském a lesnickém výzkumnictví, Věstník ČAZ, XXV, (5-6), 277-283, 1951.

Už v roce 1942 jsem konstatoval, že jihočeský biotyp rakoviny (mnou označený *SB*) je i ve východní Moravě, na začátku Karpatského oblouku (ve Velkých Karlovicích). Ostře se lišil od šluknovského typu, mnou nazvaného *NB*. Již Braun ukázal, že *SB* typ není totožný s giessübelským ani s dahlemským typem ani s žádným jiným německým typem. Odlišná agresivnost původního šluknovského biotypu (*NB*) od dahlemského a *SB* typu nás vlastně přivedla k nálezu biotypů původitele rakoviny. Ta také odděluje oba tyto biotypy od biotypů německých. V horských polohách Šumavy a Kaplicka byla ve velmi malém podílu napadena rakovinou i do té doby (do roku 1938) odolná odrůda *Parnassia*. Dnes jsem toho názoru, že v těchto případech nešlo o typ *SB*, izolovaný svého času námi z Dobřejovic a Hamru u Třeboně, ale o biotyp jiný, příbuzný: podle prací z Německa se mohou různé biotypy rakoviny vyskytovat v přírodě i na lokalitách velmi blízko sebe ležících.

Poznamenávám, že naše nové odrůdy bramborů — i ostatní odrůdy bramborů u nás pěstované — nebyly u nás zkoušeny jen na poli šluknovském (z něhož byl izolován *NB* typ), ale že námi od roku 1938 byly opakovaně přezkušovány na odolnost na pokusných polích v Dobřejovicích a v Hamru a také mnohé z nich, zejména pokud jde o naše odrůdy, až v době těsně před válkou a později vznikaly. Byly tedy všechny přezkoušeny na *SB* typ, u nás dnes všeobecně rozšířený, a jak se zdá, i v cizině hojně zastoupený. A od roku 1936 byly zkoušeny tyto odrůdy jako kříženci též laboratorně, přičemž byly používány též provenience rakoviny z jižních Čech. Rozdíl, který uvádí Zakopal a Spitzová u odrůdy *Cobbler* v SSSR a u nás, je závažný. A stejně závažný je i rozdíl, který byl pozorován u odolnosti jedné naší odrůdy vůči rakovině ve Francii a u nás.

Proč se dosud vyskytly nové biotypy rakoviny hlavně v Německu a v menší míře u nás? Řekl bych, že hlavně ze dvou důvodů: 1. velká rozmanitost přírodních podmínek v těchto územích vytváří vhodné prostředí pro vznik nových biotypů, 2. silným „promořením“ v Německu byly dány další příznivé podmínky pro vznik nových typů. U nás jsme „křížením“, tj. zavedením směsí obou typů do půdy dosáhli zesílení biotypů. Jsem přesvědčen, že vznik nových biotypů lze dosáhnout i záměrně. A přesným sledováním že se ukáže, že agresivnost jednoho a téhož, tedy stejného biotypu, se v průběhu let může měnit, zvětšovat nebo i zeslabovat.

Souhrn

Uvedená práce byla uveřejněna ve Sborníku ČSAZV, Rostlinná výroba, 4 (XXXI) (9), 1958, pp. 999—1018. Na základě rozsáhlých pokusů prováděných v letech 1952—1957 (z části od roku 1948) na různých pokusných polích, docházejí autoři k názoru, že v Československu existuje jen jeden biotyp rakoviny bramborů, že tento biotyp je totožný s biotypem dahlemským a že jde s velkou pravděpodobností i v jiných územích (s výjimkou Německa) o stejný biotyp.

Jako doplněk uvádím, že pole ve Šluknově v severních Čechách, z něhož byl izolován biotyp *NB*, bylo úmyslně zamořeno v roce 1945—1946 rakovinnými nádory z jihočeského zkušebního pole, z něhož byl izolován *SB* typ. Poněvadž karpatský biotyp je shodný s biotypem *SB*, je správný názor obou autorů, že nyní existuje v Československu jediný biotyp. Avšak v době nálezů biotypů (1941 až 1942) existovaly dva biotypy. Z nich ani první (*NB*) ani druhý (*SB*) nebyl identický s dahlemským typem; biotyp *SB* není také podle německých odborníků identický se žádným z německých biotypů. Lehké rozdíly v chování se houby

Synchytrium endobioticum vůči různým odrůdám bramborů (v SSSR vůči odrůdě *Cobbler*, ve Francii vůči jedné československé odrůdě) ukazují na to, že též v zahraničí se vyskytující biotypy rakoviny nejsou identické s československým biotypem (nemluvě o biotypech německých).

**К вопросу типов или биотипов (*formae speciales*) рака картофеля
Synchytrium endobioticum (Schilb.) Perc. в Чехословакии**

Приведенная работа была опубликована в Сборнике ЧСАСХН, Растениеводство 4 (XXXI) (9), 1958, н. п/п 999—1018. На основе обширных опытов, проведенных в 1952/57 гг. (отчасти в 1948 г.) на разных опытных полях, авторы приходят к заключению, что в Чехословакии существует только лишь один биотип рака картофеля, что этот биотип подобен даглемскому биотипу и что речь идет с большой вероятностью и в других странах (за исключением Германии) о таком же биотипе.

В качестве дополнения приводится, что поле в Шлукнове и в северной Чехии, из которого был изолирован биотип NB, было в 1945/46 гг. умышленно заражено наростами рака из югочешского опытного поля, из которого был изолирован SB тип. Точка зрения обоих авторов, что в Чехословакии в настоящее время существует единственный биотип, правильна, так как карпатский биотип подобен биотипу SB. Однако, в период установления биотипов (1941/42 гг.) существовали два биотипа. Из них ни первый (NB), ни второй (SB) не был идентичен даглемскому типу; биотип SB согласно германских специалистов также не тождествен ни одному из немецких биотипов. Небольшая разница в поведении гриба *Synchytrium endobioticum* по отношению к разным сортам картофеля (в СССР по отношению к сорту Кобблер, во Франции по отношению к одному чехословацкому сорту) говорит о том, что также и за границей встречающийся биотип рака не идентичен чехословацкому биотипу (не говоря о немецких биотипах).

Ergänzung zur Arbeit J. Zakopal u. B. Spitzová: Beitrag zur Frage der Rassen oder Biotypen (*formae speciales*) des Kartoffelkrebses *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. in der Tschechoslowakei

Die erwähnte Arbeit wurde in Sborník ČSAZV, Rostlinná výroba, 4 (XXXI), (9), 1958, pp. 999-1018, veröffentlicht. Auf Grund umfangreicher, in den Jahren 1952 bis 1957 (3. I. vom J. 1948) auf verschiedenen Prüfungsfeldern durchgeführten Versuche kommen die Autoren zur Ansicht, daß in Tschechoslowakei nur eine Biotype des Kartoffelkrebses existiert, daß diese Biotype mit der Dahlemer Biotype identisch ist und daß mit großer Wahrscheinlichkeit es sich um dieselbe Biotype in anderen Ländern handelt (mit Ausnahme von Deutschland).

Ich führe an, daß das Feld in Šluknov in Nordböhmen, von wo die NB Type isoliert worden war, mit den Krebsgeschwülsten aus dem südböhmischen Versuchsfelde, von wo die SB Type beschrieben wurde, im J. 1945/46 absichtlich infiziert wurde. Weil die in Karpathen vorkommende Biotype mit der SB Biotype identisch ist, ist die Ansicht der beiden Autoren richtig, daß heutzutage in der Tschechoslowakei eine Biotype existiert. Doch zur Zeit des Fundes der Biotypen (1941—1942) existierten zwei Biotypen. Von denselben war weder die erste (NB) noch die zweite (SB) mit der Dahlemer Biotype identisch. SB Biotype ist nach den deutschen Fachleuten auch mit keiner deutschen Biotype identisch. Leichte Differenzen im Verhalten des *Synchytrium endobioticum* gegenüber verschiedenen Kartoffelsorten (im SSSR gegenüber *Cobbler*, in Frankreich gegenüber einer tschechoslowakischer Sorte) weisen darauf hin, daß auch die im Ausland vorkommenden Kartoffelkrebs-Biotypen nicht mit der tschechoslowakischer Biotype identisch sind (nicht zu sprechen über die in Deutschland vorkommenden Biotypen).

Výtah ze směrnic

**pro autory příspěvků do sborníků Československé akademie
zemědělských věd**

VŠEOBECNÉ ZÁSADY

Příspěvky jsou předkládány redakci příslušného sborníku ČSAZV s písemným doporučením ředitele ústavu, děkana fakulty apod.

O zařazování práce rozhoduje příslušná redakční rada, která přihlíží ke společenské důležitosti, vědeckému významu i aktuálnosti práce. Lektora, příp. i více lektorů určuje pro každou práci.

Autor nese plnou odpovědnost za věcnou a formální správnost předkládané práce i za to, že nebyla a nebude uveřejněna jinde, ani doma, ani v zahraničí. Členové ČSAZV a pracovníci ústředí, kabinetů, laboratorů a ústavů ČSAZV musí příspěvky, které jsou výsledkem vědeckého nebo výzkumného úkolu ČSAZV, přednostně uveřejňovat ve sbornících. Výjimky lze připustit jen tehdy, jestliže již není možnost publikace jejich příspěvku ve sborníku. Za dodržení této zásady odpovídají vedoucí ústavů aj. pracovišť ČSAZV.

Název práce má vystihovat ve stručnosti její náplň a zaměření (nesmí být delší než 2 řádky ruční sazby, maxim. asi 90 liter). Pod názvem práce uvede autor své plné jméno, tituly, popřípadě státní vyznamenání, jakož i přesný název pracoviště.

Vlastní text práce musí být logicky členěn na kapitoly opatřené nadpisy, popřípadě na odstavce. Členění, stavba i forma práce, se volí podle druhu, náplně a poslání práce; má se ovšem přihlížet k tomuto základnímu členění:

1. Úvod, v němž je krátce vystižen vědecký, ekonomický i praktický význam práce, současný stav studované otázky, účel výzkumu a důvody, které autora vedly k jeho řešení.
2. Pracovní postup a metodika.
3. Experimentální část.
4. Rozbor výsledků a diskuse.
5. Souhrn, v němž má být uveden stručný obsah celé práce, hodnocení po stránce vědecké a ekonomické, především čím novým přispívá k řešení problému, a určení jejího využití v praxi nebo v dalším výzkumu.
6. Literatura má obsahovat seznam literárních pramenů, z nichž autor čerpal nebo na které se odvolává, či s kterými polemizuje. Nemůže to být tedy souhrn veškeré literatury, která o daném tématu byla vydána.

Redakční rada autorům doporučuje, aby zasílali nejprve **osnovu zamýšlené práce** s přibližným jednostránkovým rozsahem k předběžnému projednání v příslušné redakční radě. Předložená osnova je považována za ohlášenou práci, tudíž se všemi právy priority. Po schválení osnovy v redakční radě a sdělení výsledku autorovi, musí autor zaslat rukopis ve lhůtě stanovené redakcí.

TECHNICKÉ POKYNY

Rukopisy prací v českém nebo slovenském jazyce je třeba zaslat redakci příslušného sborníku ve dvou vyhotoveních (souhrn ve třech) na adresu: ČSAZV, Praha 12, Slezská 7.

Práce nesmí být delší než 15–20 stran rukopisu, včetně tabulek, grafů, diagramů, fotografií aj. příloh. Budou publikována i stručná, třeba i jednostránková sdělení o původních pracích. Na rukopisu uvede autor svoji přesnou adresu.

Rukopis musí odpovídat všem v těchto směrnících uvedeným požadavkům, zejména pokud jde o rozsah, úpravu a citaci literatury.

Úprava rukopisu. Rukopis musí být psán podle ČSN, tj. po jedné straně bílého papíru, formátu A4 — kancelářského, na stroji s normalizovanou velikostí typů (ne perličkové), s dvojitými mezerami (řádkování 2, nikoliv 1,5), 3,5 cm od levého okraje a 2 cm od pravého okraje (tj. na 1 rukopis. stránce 30 řádek po 60 písmenech). Rukopisy psané na průsvitném papíře, v kopii, rozmnožené či hustě psané a s více jak šesti strojem nebo inkoustem vyznačenými opravami na jedné stránce nebude

redakce přijímat. Budou-li čitelné, dá je přepsat na náklad autora. Stránky rukopisu musí být číslovány.

Jména autorů uvnitř textu, na něž jsou odvolávky, se píší malými písmeny. V závorce za jménem je označení buď pořadového čísla uvedeného v seznamu literatury (6) nebo roku vydání knihy (1953).

Obrázky (všeobecné zásady) musí být výstižné, jasné, přehledné a přesně označené pořadovým číslem, jménem autora a názvem práce. Jejich umístění se vyznačuje v rukopise na levé straně kroužkem. Při odvolání na obrázky je třeba v textu uvádět arabské číslování. Autor může navrhnout reprodukční velikost obrázků. Legenda k obrázkům se připojuje na samostatný list. Grafy, diagramy a fotografie je nutno označit společným následným pořadím arabskými číslicemi.

Fotografie musí být dokonale ostré, kontrastní, bez rušivého pozadí, na bílém papíře s lesklým hladkým povrchem o rozměrech 9×12 nebo 13×18 cm (normalizované rozměry).

Grafy a diagramy je třeba kreslit tuší na bílém kreslicím nebo průsvitkovém papíře v jednotných rozměrech ve zvětšeném měřítku, a to:

1. šířka 18 cm (maxim. výška 26 cm) — po zmenšení o $\frac{1}{3}$ bude reprodukován obrázek na šířku sazby (tj. 28 cicer),
2. šířka 9 cm — po zmenšení budou 2 reprodukovány obrázky na šířku sazby nebo 1 obrázek oblomený.

Popisy na grafech a diagramech musí být psány pomocí šablony, úměrně k velikosti grafu nebo diagramu. Křivky uvnitř grafů je třeba označit číslicemi, šablona 5 cm, šikmé písmo. Redakce si vyhrazuje právo po technické stránce nevyhovující kresby autorovi vrátit k překreslení, popřípadě je dát překreslit na autorův náklad.

Tabulky je nutno omezit na nezbytně nutný počet. Nerespektuje-li autor tuto zásadu, může tak učinit na návrh lektora redakční rada. Tabulky musí být přehledné, jasné a logicky uspořádané, s minimálním počtem sloupců. V uzavřených tabulkách se zpravidla oddělují linkami jen sloupce a záhlaví. Tabulky musí být připojeny mimo text. Jejich zařazení v textu se v rukopise vyznačí na levé straně římskou číslicí v trojúhelníku. Také při odvolání na tabulku uvnitř textu je třeba užívat římského číslování.

Matematické vzorce, jednoduché, je možné psát na stroji, složitější musí být do textu velmi pečlivě a zřetelně vepsány perem. Nad a pod rovnici je třeba vynechat nejméně jeden řádek. Zvláště pečlivě je třeba napsat a umístit indexy, exponenty a modifikující značky. Zřetelně vyznačit rozdíl mezi velkými a malými písmeny, právě tak jako mezi písmenem l a číslicí 1, a správně a zřetelně psát písmena jiných abeced. Jednoduché výrazy je žádoucí psát do řádků. Důležité rovnice se píší na zvláštní řádek, jednořádkové rovnice, méně důležité, resp. běžné známé se zařazují do plynulého textu.

Příklad citace literatury:

1. Černý L.: Obilniny, SZN, Praha 1951 (u knih).
2. Bartoš A.: Hodnocení siláží s vysokým obsahem sušiny. Sborník ČSAZV - Rostlinná výroba, XII, 2:124-128, 1958 (u časopisů).

Cizojazyčné souhrny v ruském a německém jazyce, popřípadě v anglickém nebo francouzském, může dodat autor sám spolu s českým textem, ne delším než na jedné strojové stránce. Redakce dává autorovy překlady ještě k odborné a jazykové revizi. Nedodá-li překlady autor, opatří si je redakce sama. V tom případě žádáme dodání speciálních cizojazyčných výrazů k usnadnění práce překladatele.

Korektury. Za definitivní text práce je třeba považovat rukopis. V některých případech předkládá redakce po redakčním zpracování rukopis autorovi k imprimování a nemusí již zasílat k náhledu stránkové korektury. V tomto případě přebírá odpovědnost za správnost vytištěného textu podle autorem imprimovaného rukopisu již redakce sama. Není-li autorem imprimován rukopis, dostává autor ke korektuře stránkový obsah a může vyznačit jen chyby tiskárny nebo chyby vzniklé redakční úpravou či přepisem. Větší doplňky nebo změny ve stránkových obtazích budou provedeny jen na náklad autora.

Autorský výtisk obdrží autor zdarma; za 30 separátů bude odpočítána příslušná částka honoráře, a to podle rozsahu práce. (Za rubriky: Drobné zprávy, Z vědeckého života, Zahraničí apod. autoři separáty nedostávají.) Požaduje-li autor více separátů, musí to oznámit redakci při předložení rukopisu k imprimování nebo obsah stránek ke korektuře. Budou vytištěny na jeho náklad.

- Pejml K.: Příspěvek k předpovědi fytoftory (*Phytophthora infestans*, Montagne de Bary) podle minimální teploty a relativní vlhkosti vzduchu, pozorovaných na meteorologických stanicích
К вопросу прогноза фитофторы (*Phytophthora infestans*, Montagne de Bary) в зависимости от минимальной температуры и относительной влажности воздуха, наблюдаемых на метеорологических станциях
Ein Beitrag zur Vorhersage des Kartoffelschimmels (*Phytophthora infestans*, Montagne de Barry) gemäß minimaler Temperatur und relativer Luftfeuchtigkeit nach Messungen meteorologischer Stationen 181
- Košťál Z.: Příspěvek k poznání některých morfologických a fyziologických vlastností houby *Helmintosporium sativum* P. K. a B.
К вопросу познания некоторых морфологических и физиологических свойств гриба *Helmintosporium sativum* P. K. B.
Beitrag zur Erkenntnis einiger morphologischer und physiologischer Eigenschaften des Pilzes *Helmintosporium Sativum* P. K. und B. 195
- Benada J.: Skvrnitá nekróza ječmene
Пятнистый некроз ячменя
Fleckennekrose der Gerste 205
- Rod J., Řídký K.: Geneticko-fyziologická studie rezistence pšenice proti sněti prašné — IV. Pokus o „biologické moření“
Генетическо-физиологическое изучение устойчивости пшеницы против пыльной головни
IV. Опыт с «биологическим протравливанием»
Genetisch-physiologische Studie der Resistenz des Weizens gegen Flugbrand
IV. Versuch mit der „biologischen Beizung“ 211
- Bartoš P., Zemánek J.: Účinnost anaerobního moření proti prašné sněti ovesné
Эффективность анаэробного протравливания против пыльной головни овса
Wirkung der anaeroben Beizung gegen den Haferflugbrand
Efficacy of Anaerobic Treatment Against the Loose Smut of Oats 227
- Ujevič I., Staněk M.: Použití fytoncidů česneku k moření semen fazole proti anthraknóze způsobené houbou *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. a proti skvrnitosti vyvolávané bakterií *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Smith) Dowson
Применение фитонцидов чеснока для протравливания семян фасоли против антракноза, вызываемого грибом *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. и против пятнистости, вызываемой бактерией *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Smith) Dowson
Die Verwendung der Phytonzide des Knoblauchs zum Beizen von Bohnensamen gegen die durch den Pilz *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. verursachte Anthraknose und gegen den durch das Bakterium *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Smith) Dowson hervorgerufenen Bohnenbrand
Utilization of the Phytoncides of Garlic to Treat Bean Seed for Anthracnose Caused by Fungus and for Spot Disease Caused by the Bacteria *Xanthomonas Phaseoli* (E. F. Smith) Dowson 237

- Grulich I.: Škody způsobené hrabošem polním na ovocných dřevinách
Вред, причиняемый обыкновенной полевкой фруктовым деревьям в ЧСР
Die Feldmaus als Schädling von Obstbaumbeständen 253
- Kazda V.: Příspěvek k poznání života krytonosce zelného (*Ceuthorrhynchus pleurostigma* Marsh.) v Československu
К вопросу изучения жизни скрытохоботника капустного (*Ceuthorrhynchus pleurostigma* Marsh.) в Чехословацкой республике
Beitrag zur Erkenntnis der Biologie des Kohlgallenrüsslers (*Ceuthorrhynchus pleurostigma* Marsh.) in der Tschechoslowakei 261
- Řeháček Z.: Vliv některých faktorů na projev antibiotické aktivity aktinomycet na agarových plotnách
Влияние некоторых факторов на проявление антибиотической активности актиномицетов на агаровых пластинках
Einfluß einiger Faktoren auf das Auftreten des antibiotischen Aktivität der Aktinomyzeten auf Agarplatten 271
- Blattný C.: Doplněk k práci J. Zakopala a B. Spitzové: Příspěvek k otázce ras či biotypů (*formae speciales*) rakoviny bramborů *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. v Československu
К вопросу типов или биотипов (*formae speciales*) рака картофеля *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. в Чехословакии
Ergänzung zur Arbeit J. Zakopal und B. Spitzová: Beitrag zur Frage der Rassen oder Biotypen (*formae speciales*) des Kartoffelkrebses *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. in der Tschechoslowakei 277