



VÝZKUMNÝ ÚSTAV ROSTLINNÉ VÝROBY, v.v.i.

VIROVÁ ČÁRKOVITÁ MOZAIKA PŠENICE: **Choroba s narůstajícím významem**



(Čárkovitá mozaika pšenice, odrůda Florida, Foto J. Kumar)

Kumar, Slavíková, Chalupníková

Praha, 2016

Virová čárkovitá mozaika pšenice:

Choroba s narůstajícím významem

Autoři:

Ing. Jiban Kumar, Ph.D*

Ing. Lucie Slavíková

Mgr. Jana Chalupníková

Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i.

Drnovská 507, 161 06 Praha-Ruzyně

***korespondující autor: e-mail: jiban@vurv.cz**

Tato práce byla financována z projektu NAZV QJ1230159

Metodika pro zemědělskou a diagnostickou praxi

© Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., 2016

ISBN: ISBN 978-80-7427-209-7

ANOTACE (ČESKY):

Virová čárkovitá mozaika pšenice způsobená WSMV - *Wheat streak mosaic virus* je závažná choroba obilnin, zejména pšenice. Mezi typické příznaky patří chlorotické čárkovité mozaiky listu, které nekrotizují a postupně dochází k vysychání od špiček listu. Napadené rostliny vytvářejí menší počet odnoží a často také sterilní klasy. WSMV přenáší roztoč *Aceria tosichella* a v menší míře, cca do 1,5 % z celkových nákaz, je přenášen osivem. WSMV byl poprvé identifikován v ČR v osmdesátých letech Dr. Vackem. Výskyt tohoto viru v posledních letech narůstá a byl zaznamenán plošný výskyt v několika porostech pšenice na různých místech ČR. Tato metodika shrnuje současné poznatky o WSMV a jeho vektoru, včetně výskytu a možnostech ochranných opatření vůči této chorobě.

ANOTACE (ANGLICKY):

Wheat streak mosaic virus (WSMV) causes serious disease in cereal crops, particularly in wheat. The main symptoms caused by WSMV include chlorotic streak mosaic on leaf, which become necrotic and gradually dry from the top of the leaf. In severe infection plant stunting and spike become sterile. WSMV is transmitted by cereal curl mite *Aceria tosichella*, and in low level (up to 1.5%) also transmitted by seeds. WSMV was detected in first time in the former Czechoslovakia in early eighties. The incidence of the virus in recent years is growing in the Czech Republic and even severe occurrence and wide distribution in some wheat fields in different regions of the country was determined. This methodology put together recent knowledge of WSMV and its vector, including the incidence and possibilities of control cereal crops against the virus.



Oponenti:

RNDr. Jan Juroch

odborný referent metod integrované ochrany rostlin

odbor ochrany proti škodlivým organismům

oddělení metod integrované ochrany rostlin

ÚSTŘEDNÍ KONTROLNÍ A ZKUŠEBNÍ ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝ

Zemědělská 1752/1a, Brno, 61300

prof. Ing. Radovan Pokorný, Ph.D.

Vedoucí Ústavu pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství

MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ

Zemědělská 1, 61300 Brno

Metodika Byla certifikována Ústředím kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským (ÚKZÚZ), OSVĚDČENÍ: 136252/2016



Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

Hroznová 2, 656 06 Brno

v y d á v á OSVĚDČENÍ

(UKZUZ 136252/2016)

o uznání certifikované metodiky

v souladu s podmínkami „Metodiky hodnocení výsledků výzkumných organizací a hodnocení výsledků ukončených programů (platné pro léta 2013 až 2016)“

Název metodiky: **VIROVÁ ČÁRKOVITÁ MOZAIKA PŠENICE:**
Choroba s narůstajícím významem
Autoři: **Ing. Jiban Kumar, Ph.D.; Ing. Lucie Slavíková;**
Mgr. Jana Chalupníková
Název organizace: **Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.;**
Místo vydání metodiky: **Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.**
Drnovská 507, 161 06 Praha 6 - Ružyně
Rok vydání metodiky: **2016**
ISBN: **978-80-7427-209-7**

Metodika byla vypracovaná v rámci řešení výzkumného projektu č. NAZV QJ1230159 „Monitoring, diagnostika a práh škodlivosti viróz obilnin a jejich přenašečů v souvislostech stále se měnícího klimatu“.

Projekt využívá „Pravidla pro odvětví zemědělství, lesnictví a rybolovu“ ANO/NE*.
V případě, že projekt využívá „Pravidla pro odvětví zemědělství, lesnictví a rybolovu“, je výsledek typu N_{met} zdarma k dispozici všem zájemcům na webové stránce www.vurv.cz.

Brno 28. prosince 2016

Razítko odborného orgánu státní správy:



Jméno zástupce odborného útvaru státní správy:

Ing. Daniel Jurečka

Funkce zástupce odborného útvaru státní správy:

ředitel

Podpis zástupce odborného útvaru státní správy:

Souhlas Odboru výzkumu, vzdělávání a poradenství MZe:

Datum a podpis ředitele/ředitelky odboru:

Ing. Pavlína Adam, Ph.D.

Razítko
**MINISTERSTVO
ZEMĚDĚLSTVÍ**
Těšnov 65/17
110 00 Praha 1- Nové Město
-3-

1. Cíl metodiky.....	6
2. Úvod.....	6
3. Původ a popis virové čárkovité mozaiky pšenice.....	7
4. Cyklus choroby.....	8
5. Příznaky napadení	9
6. Způsoby přenosu viru čárkovité mozaiky pšenice.....	11
6.1. Přenos roztočem <i>Aceria tosichella</i> a jeho popis	11
6.2. Přenos WSMV osivem.....	13
7. Hostitelé viru čárkovité mozaiky pšenice.....	14
8. Výskyt viru čárkovité mozaiky pšenice v světě	16
9. Výskyt viru čárkovité mozaiky pšenice v ČR	17
10. Detekce viru čárkovité mozaiky pšenice	20
10.1. Detekce viru pomocí TAS/DAS-ELISA	23
10.2. Detekce viru pomocí RT-PCR.....	25
11. Poškození porostu a výnosové ztráty způsobené WSMV.....	30
12. Rezistence obilnin vůči WSMV.....	32
13. Rizikové faktory výskytu viru čárkovité mozaiky pšenice.....	33
14. Ochranná opatření vůči WSMV.....	34
15. Seznam použité literatury.....	35
16. Seznam publikací, které předcházely metodice.....	39

1. CÍL METODIKY

Cílem certifikované metodiky je předložit odborné veřejnosti ucelené informace týkající se problematiky viru čárkovité mozaiky pšenice - *Wheat streak mosaic virus* – WSMV, jehož výskyt má na území ČR narůstající tendenci zejména v porostech pšenice.

2. ÚVOD

Obilniny jsou hlavní pěstovanou skupinou polních plodin v ČR. Pěstují se na rozloze téměř 1600 tisíc hektarů, což představuje více než 60 % z celkové výměry orné půdy České republiky. Vzhledem k tomuto masivnímu pěstování a méně pestrým osevním postupům jsou obilniny napadány mnoha patogeny. Virózy obilnin patří mezi významné choroby, které mohou způsobovat velké výnosové ztráty. Nejdůležitějšími virózami jsou na území České republiky - virová zakrslost pšenice a virová žlutá zakrslost ječmene.

V posledních letech jsou na různých územích naší země zaznamenávány lokality s výskytem virové čárkovité mozaiky pšenice. Tato virová choroba se poprvé objevila ve 20. letech (1922) minulého století v Severní Americe v oblasti Velkých planin. Od této doby jsou další nálezy postupně hlášeny i z ostatních pěstitelských oblastí pšenice na různých místech světa. Na území České republiky byl výskyt WSMV poprvé zaznamenán Dr. Vackem v 80. letech minulého století. V posledních letech dochází k dalším, čtenějším a častějším nálezům této choroby, včetně plošných výskytů v některých porostech pšenice různě na území České republiky.

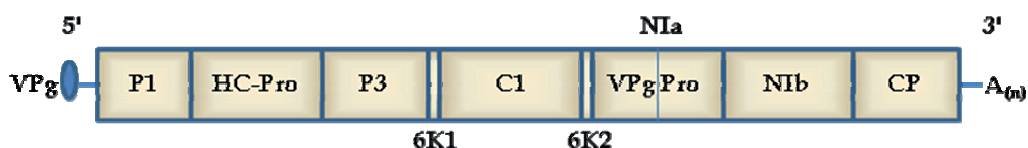
Přenašečem WSMV je roztoč *Aceria tosichella*, který využívá jako hostitele celou řadu druhů z čeledi Poaceae - Trávovité. Byl proveden průzkum hostitelského okruhu tohoto patogenu a zahrnuje v podstatě všechny kulturní hospodářsky významné druhy čeledi Poaceae - pšenici, ječmen, oves, kukuřici i proso a zároveň také různé druhy planě rostoucích či plevelných trav.

Škody způsobené infekcí WSMV jsou značně variabilní. Prozatím zjištěné ztráty na produkci mohou dosahovat redukci ve výnosových prvcích od 7 %

až po 83 %. Každopádně porosty napadené WSMV mají růstové retardace a různé nekrotické chlorózy, které poškozují také praporcové listy. V důsledku toho rostliny hůře asimilují a dochází k redukci výnosových prvků jako nižší HTS, počet odnoží a počet zrn v klase.

3. PŮVOD A POPIS VIROVÉ ČÁRKOVITÉ MOZAIKY PŠENICE

Čárkovitá mozaika pšenice je virová choroba, jejímž původcem je virus čárkovité mozaiky pšenice - *Wheat streak mosaic virus* - WSMV. Tento virus je zástupcem rodu *Tritimovirus* z čeledi *Potyviridae* (Rabenstein et al., 2004). Virové částice WSMV jsou tyčinkovité o velikosti 15x700 nm. Genom WSMV tvoří jednovláknová RNA o délce 9,339 až 9,384 nukleotidů (nt) a má jeden čtecí rámec, který je přepsán do velkého polyproteinu. Tento polyprotein se skládá z deseti proteinů: P1, HC-Pro, P3, 6K1, C1, 6K2, NIa (VPg a Pro), NIb a CP (Stenger et al., 1998; Choi et al., 2001).



Obrázek 1: Genom viru čárkovité mozaiky pšenice

Každý jednotlivý protein má v genomu viru svoji specifickou funkci. (Oana et al., 2009):

P1: vývoj příznaků choroby, amplifikace genomu, navázání RNA

HC-Pro: přenos viru vektorem, pohyb virionu z buňky do buněk, amplifikace genomu, determinace patogenity, rozvoj příznaků choroby, vazba RNA,

P3: odpovědnost za patogenitu a replikaci genomu viru

6K1: spolu s P3 se podílí na patogenitě a replikaci genomu viru

C1: odpovědnost za pohyb virionu z buňky do buněk, amplifikace genomu a vazba RNA

6K2: podílí se na umístění virových replikačních komplexů do buněčných stěn a amplifikace genomu viru

VPg: amplifikace genomu viru a vazba RNA

NIa: vazba RNA, amplifikace genomu, interakce proteinu s proteinem

NIb: replikace genomu viru, RNA dependentní RNA polymeráza (RdRp), vazba RNA

CP: přenos viru, pohyb virionu z buňky do buněk a pohyb na velké vzdálenosti, sestavení virionů, vazba RNA a amplifikace genomu viru

Z pohledu fylogeneze viru existují mezi jednotlivými izoláty WSMV určité rozdíly, které se mohou rovněž projevit ve variabilitě příznaků choroby. Zjištěné rozdíly v izolátech WSMV jsou prozatím rozděleny do čtyř skupin:

Skupina A: izoláty z Mexika

Skupina B: izoláty z centrální Evropy a Ruska. Tyto izoláty jsou známy jako WSMV-ΔE a vyznačují se delecí 3 nukleotidů (Gly2761) v sekvenci obalového proteinu (Gadiou et al., 2009).

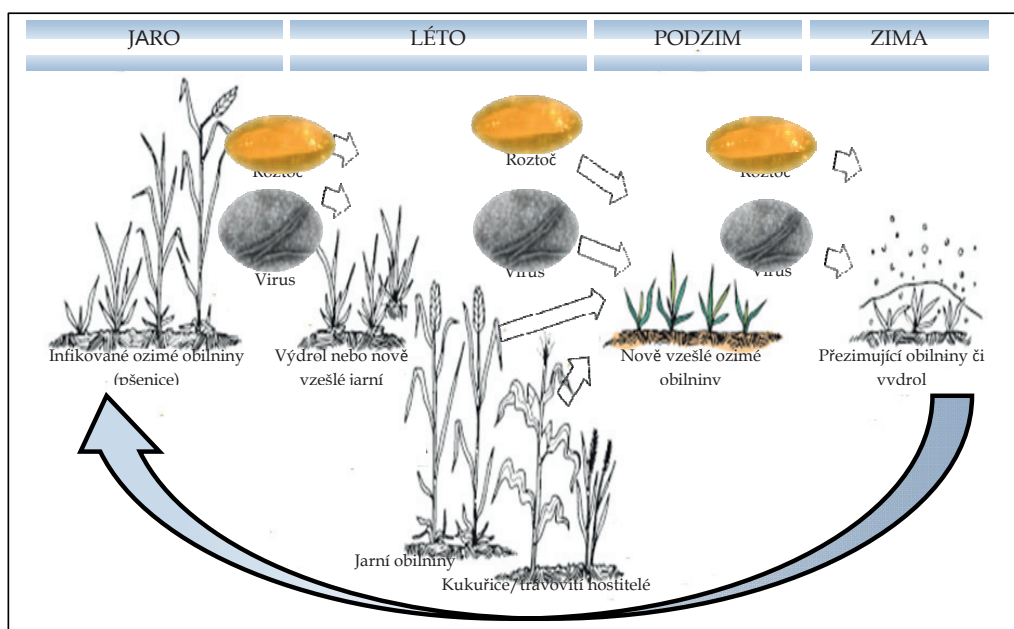
Skupina C: izoláty z Iránu

Skupina D: izoláty z USA a Kanady

4. CYKLUS CHOROBY

Cyklus napadení WSMV začíná v podzimním období, kdy se vironosní roztoči stěhují z infikovaných porostů obilnin, kukuřice, výdrolu pšenice nebo trav na nově vzešlé porosty ozimých obilnin (pšenice). Časná infekce u mladých vzcházejících rostlin má za následek vyšší výnosové ztráty ozimé pšenice (Slykhuis et al. 1957, Hunger et al. 1992).

Porosty ozimé pšenice mohou být rovněž infikované na jaře, avšak jarní infekce nemají podstatný vliv na výnosové ztráty (Somsen and Sill 1970). Pšenice nebo jiné obilniny či trávy infikované WSMV slouží jako zdroj inokula viru. Po sklizni plodiny (v letním období) se roztoči přestěhují na výdrol a travní porosty na mezích tzv. „zelený most“, kde roztoči infikovaní WSMV přežívají a množí se. Poté vironosní roztoči znovu infikují nově vzešlé porosty ozimé pšenice či jiných obilnin.



Obrázek 2: Vývojový cyklus virové čárkovité mozaiky pšenice (adaptace diagramu dle Watkins et al., 1989)

5. PŘÍZNAKY NAPADENÍ

Prvotní příznaky napadení WSMV se projevují na jaře po oteplení. Na listech se vytváří nepatrné, avšak velmi četné čárky rovnoběžné s žilnatinou. Tato místa vykazují úbytek chlorofylu, mohou být širší a tvořit souvislejší pruhy.

Infekce virem čárkovité mozaiky pšenice způsobuje redukci kořenového systému rostlin, z toho plynoucí snížení příjmu vody kořeny a tudíž snížení dostupnosti vody pro rostlinu (Price et al., 2010). Redukce kořenového systému se u nadzemních částí rostlin projevuje retardací růstu (Hadi et al., 2011). Infikované rostliny se objevují zpočátku na okrajích polí. Tato skutečnost souvisí s migrací roztočů z travnatých, neudržovaných ploch hraničících s porosty obilnin (Hunger 2010). Napadené rostliny jsou obvykle zakrslé (Langham et al. 2001b), dochází k poškození klasu, semena se hůře vyvíjí, mají nižší HTS (Atkinson a Grant 1967, Langham et al. 2001b) a také počet zrn v klase je nižší (Atkinson a Grant 1967).

V důsledku chlorotických skvrn dochází k následnému snížení kapacity fotosyntézy rostlin. Při masivní infekci vznikají velké chlorotické plochy,

které nakonec způsobují nekrózy tkání a úhyn celé rostliny. V důsledku zasychání praporcového listu dochází k vysokým výnosovým ztrátám. Porost pšenice napadené WSMV má vyšší obsah bílkovin, ale nižší schopnost mouky vázat vodu, což jí z hlediska potravinářského využití značně znehodnocuje (Atkinson a Grant 1967).

Vývoj a intenzita napadení WSMV závisí na růstové fázi infekce - obecně platí, že časná infekce WSMV má za následek vyšší výnosové ztráty (Hunger et al. 1992).



Obrázek 3: Příznaky čárkovité mozaiky a chlorotického žloutnutí listu u ozimé pšenice, odrůda Ludwig (Ruzyně, foto J. Kumar)



Obrázek 4: Příznaky chlorotického žloutnutí a postupného usychání listu u ozimé pšenice odrůdy Ludwig (Ruzyně, foto J. Kumar)

6. ZPŮSOBY PŘENOSU VIRU ČÁRKOVITÉ MOZAIKY PŠENICE

V přírodních podmínkách je virus čárkovité mozaiky pšenice (WSMV) přenášen především roztočem *Aceria tosichella* a v menší míře osivem infikovaných rostlin. Virus lze přenášet také mechanickou inokulací a to šťávou z infikovaných rostlin. Tento způsob přenosu však nemá v polních podmínkách zásadní význam. V experimentálních podmínkách se WSMV přenáší mechanickou inokulací.

6.1. Přenos roztočem *Aceria tosichella* a jeho popis

Virus čárkovité mozaiky pšenice (WSMV) je přenášen především roztočem *Aceria tosichella* z čeledi Eriophyidae (angl. Wheat curl mite - WCM). Tento

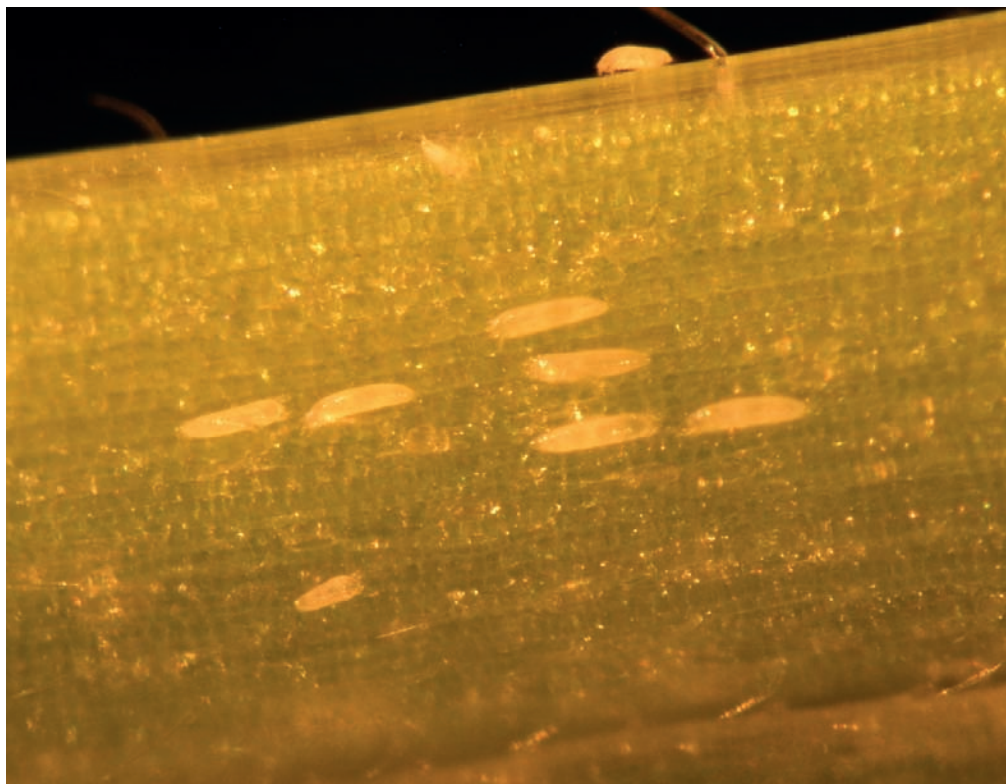
roztoč je velký 0,1 až 0,3 mm, má bílé zbarvení a doutníkový tvar těla. *A. tosichella* není okřídlený, má ale dva páry nohou blízko hlavy. Na nová stanoviště se šíří vzdušnými proudy (Sabelis a Bruin 1996). Životní cyklus se skládá z vajíčka, dvou instarů nymfy a dospělce. Při teplotách okolo 25 - 28 °C je roztoč *Aceria tosichella* během 8-10 dnů schopen uskutečnit svůj vývoj od vajíčka až po dospělé schopného další reprodukce. Samičky produkují kolem 20 vajíček, přičemž potenciál samic je přes 3 milióny vajíček v průběhu 60 dní. Z tohoto důvodu jsou pro expanzi této choroby nebezpečná dlouhá období teplého léta s teplotami kolem 25 °C. Naopak při teplotách nižších než 15 °C jejich reprodukční schopnost velice rychle klesá.

Vajíčka tohoto roztoče jsou schopna přežít poměrně dlouhou dobu při teplotách pod bodem mrazu. Experimentálně bylo zjištěno, že po expozici vajíček teplotě -15°C po dobu 8 dní byla více než čtvrtina všech vajíček schopna dále pokračovat ve vývoji při následném zvýšení teplot na 20°C (Slykhuis 1955). Obě nymfální stádia i dospělci jsou schopni přenášet virus. Pozorovat a nalézt tohoto roztoče v porostu, vzhledem k jeho velikosti, není možné. Je možné ho vidět pouze pomocí mikroskopu.

Odlišit *Aceria tosichella* od ostatních eriophyoidních roztočů je obtížné. Většina zástupců z této skupiny roztočů, mezi ně patří i *A. tosichella* má vysokou hostitelskou specifitu a je tedy při identifikaci hostitele poměrně jednoduché i určení konkrétního roztoče. Tito roztoči mají obvykle jednoho hostitele nebo hostitele z několika druhů rostlin jednoho rodu. *A. tosichella* je tomto směru výjimkou. Jeho okruh hostitelských rostlin zahrnuje téměř 90 druhů rostlin čeledi trávovitých Poaceae (Amrine 2003). *A. tosichella* se nakazí virem při sání na infikovaných rostlinách. Roztoč zůstává poté po dobu jednoho týdne infekční, možná i déle. Infekčnost roztoče však jeho následným množením nepřechází na potomky.

Roztoči mohou přímo poškodit mladé rostliny nebo ovlivnit růst mladých rostlin, což způsobuje, že listy zůstávají stočené. Roztoči v těchto stočených listech přežívají i několik měsíců a dokonce mohou přežívat také v listových pochvách a plevách. V chladnějších podmínkách mohou roztoči přežít až dva týdny zcela bez potravy. Teplotně vyrovnaná léta, s mírnějším průběhem

teplot a odpovídajícími dešťovými srážkami, zkrátka podmínky svědčící rychlému růstu trav, prospívají roztoči *Aceria tosichella* a tudíž i nahromadění viru v porostu pšenice.



Obrázek 5: Roztoč *Aceria tosichella*, velikost 0,02 mm (foto A. Skoracka)

6.2. Přenos WSMV osivem

Přenos viru čárkovité mozaiky pšenice osivem byl popsán počátkem 70 let u liniové odrůdy kukuřice (Hill et al., 1974). Jedná se však o velmi malý podíl z celkového počtu nakažení -cca 0,5-1,5 % (Jones et al., 2005). Přenos osivem je odlišný v závislosti na odrůdě pšenice. Tento typ přenosu je významný z hlediska introdukce WSMV do nových oblastí. V případě, že se v infikovaném porostu vyskytuje *Aceria tosichella*, může být infekce WSMV rychle rozšířena nejen v daném porostu ale i v porostech okolních.

7. HOSTITELÉ VIRU ČÁRKOVITÉ MOZAIKY PŠENICE

Aceria tosichella je schopen sáním infikovat mnoho druhů rostlin čeledi Poaceae (Brakke 1971, French a Stenger 2002). Toto široké spektrum hostitelů zahrnuje jak kulturní plodiny jako je pšenice (*Triticum aestivum* L.), oves (*Avena sativa* L.), ječmen (*Hordeum vulgare* L.), kukuřice (*Zea mays* L.) a proso (*Panicum miliaceum*), ale také celou řadu planě rostoucích i plevelných trav. Doposud zjištěné hostitelské rostliny jsou uvedeny v tabulce č. 1 (Chalupníková et al., 2016). Nejméně 45 druhů trav je známých jako přirození hostitelé WSMV přičemž většina z nich jsou trávy jednoleté (French a Stenger 2002, Christian a Willis 1993, Ito et al. 2012, Sill a Agusiobo 1955).

Tabulka 1: hostitelské okruhy Viru čárkovité mozaiky pšenice

Hostitelské druhy	Český název	Citace
<i>Agrostis capillaris</i>	Psineček obecný	Chalupníková et al. 2016
<i>Alopecurus pratensis</i>	Psárka luční	Dráb et al., 2014
<i>Anthoxanthum odoratum</i>	Tomka vonná	Chalupníková et al. 2016
<i>Arrhenatherum elatius</i>	Ovsík vyvýšený	Dráb et al., 2014
<i>Austrostipa compressa</i>	nemá český název	Vincent et al., 2014
<i>Aegilops cylindrica</i>	Mnohoštět válcovitý	Sill et al., 1953
<i>Avena barbata</i>	Oves vousatý	Coutts et al., 2014
<i>Avena fatua</i>	Oves hluchý	Vacke et al., 1986
<i>Avena sativa</i>	Oves setý	Brakke, 1971
<i>Avena strigosa</i>	Oves hřebíkatý	Vacke et al., 1986
<i>Avena sterilis</i>	Oves jalový	Murray et al., 2005
<i>Briza maxima</i>	Třeslice větší	Coutts et al., 2014
<i>Bromus diandrus</i>	nemá český název	Murray et al., 2005
<i>Bromus rigidus</i>	Sveřep tuhý	Coutts et al., 2014

<i>Bromus arvenis</i>	Sveřep rolní	Sill et al., 1953
<i>Bromus secalinus</i>	Sveřep stoklasa	Sill et al., 1953
<i>B. tectorum</i>	Sveřep střešní	Sill et al., 1953
<i>Bromus japonicus</i>	Sveřep japonský	Wegulo et al, 2008
<i>Cynodon dactylon</i>	Troskut prstnatý	Ellis et al., 2004
<i>Cenchrus longispinus</i>	nemá český název	Connin, 1956
<i>Cenchrus pauciflours</i>	nemá český název	Wegulo et al, 2008
<i>Digitaria sanguinalis</i>	Rosička krvavá	Vacke et al., 1986; Somensen a Sill, 1970
<i>Echinochloa crus-galli</i>	Ježatka kuří noha	Sill a Connin, 1953
<i>Echinochloa colonum</i>	nemá český název	Khadivar a Nasrolahnejad, 2009
<i>Elymus repens</i>	Pýr plazivý	Ito et al., 2012
<i>Eragrostis cilianensis</i>	nemá český název	Connin, 1956
<i>Eragrostis curvula</i>	nemá český název	Ellis et al., 2004
<i>Eriochloa acuminata</i>	nemá český název	Seifers et al., 2010
<i>Eriochloa contracta</i>	nemá český název	Christian a Willis, 1993
<i>Eleusine indica</i>	Kalužnice indická	Murray et al., 2005
<i>Eleusine tristachya</i>	nemá český název	Ellis et al., 2004
<i>Elymus canadensis</i>	Pýrovník kanadský	Ito et al., 2012
<i>Holcus lanatus</i>	Medyněk vlnatý	Chalupníková et al. 2016
<i>Holcus mollis</i>	Medyněk měkký	Chalupníková et al. 2016
<i>Hordeum leporinum</i>	Ječmen myší	Coutts et al., 2014
<i>Hordeum vulgare</i>	Ječmen setý	Brakke, 1971
<i>Lagurus ovatus</i>	Zaječí ocásek vejčitý	Vacke et al. 1986
<i>Lolium mitiflorum</i>	Jílek mnohokvětý	Vacke et al. 1986; Ellis et al., 2004

<i>Lagurus ovatus</i>	Zaječí ocásek vejčitý	Murray et al., 2005; Coutts et al. 2014
<i>Panicum dichotomiflorum</i>	nemá český název	Sill a Connin, 1953
<i>Panicum capillare</i>	Proso vláskovité	Coutts et al., 2008
<i>Panicum millaceum</i>	Proso seté pravé	Sill a Agusiobo, 1955; Vacke et al., 1986; Ellis et al. 2004
<i>Pennisetum glaucum</i>	nemá český název	Seifers et al., 1996
<i>Phalaris aquatica</i>	chrastice	Ellis et al., 2004
<i>Phleum pratense</i>	Bojínek luční	Dráb et al. 2014
<i>Poa pratensis</i>	Lipnice luční	Ito et al., 2012; Dráb et al. 2015
<i>Secale cereale</i>	Žito trsnaté	Vacke et al., 1986; Ito et al., 2012
<i>Setaria verticellata</i>	Bér přeslenitý	Murray et al., 2005; Edwards et al., 2006
<i>Setaria viridis</i>	Bér zelený	Sill and Connin, 1953
<i>Setaria italica</i>	Bér italský mohárový	Truol et al., 2010
<i>Sorghum bicolor</i>	Čirok dvoubarevný	Seifers et al., 1996
<i>Tragus australianus</i>	nemá český název	Coutts et al., 2008
<i>Triticum aestivum</i>	Pšenice setá	Brakke, 1971
<i>Zea mays</i>	Kukuřice setá	Brakke, 1971

8. VÝSKYT VIRU ČÁRKOVITÉ MOZAIKY PŠENICE VE SVĚTĚ

WSMV byla poprvé zaznamenán v oblasti Velkých planin (GPR) v Severní Americe v roce 1920 (McKinney, 1937). Od tohoto roku byl WSMV nacházen v mnoha oblastech, kde se pěstuje pšenice: v Severní a Jižní Americe, Evropě, na Středním východě, v Asii, Austrálii a na Novém Zélandu (Navia et al. 2013, Skoracka et al., 2014). Ztráty na produkci způsobené tímto virovým onemocněním jsou velmi variabilní. V Kansasu se pohybovaly v rozmezí od 7

do 13 % (Atkinson a Grant 1967), okolo 18 % v Kanadě (Christian and Wills, 1993). V Austrálii dosáhly škody na produkci způsobené WSMV obrovských hodnot – až 83 % produkce bylo zničeno (Lanoiselet et al. 2008).

9. VÝSKYT VIRU ČÁRKOVITÉ MOZAIKY PŠENICE V ČESKÉ REPUBLICE

Výskyt WSMV byl poprvé zaznamenán na území bývalého Československa v počátku osmdesátých let (Vacke et al., 1986). V posledních letech jsou výskyty viru častější a četnější (Ripl a Kumar 2010, Gadiou et al. 2009, Dráb et al. 2015), a to zejména v porostech ozimé pšenice. Vacke et al. (1986) zaznamenal nálezy WSMV v porostech pšenice, ječmene jarních i v ozimých formách, ovsa a některých odrůdách kukuřice. Virus byl nalezen také v porostech prosa setého a stejně tak v nekulturních porostech trav, jako *Avena fatua*-oves hluchý, *Avena strigosa* – oves hřebíkatý, *Lolium multiflorum*- jilek mnohokvětý, *Lagurus ovatus* - zaječí ocásek vejčitý a *Digitaria sanguinalis* – rosička krvavá. V tabulce č. 2 jsou uvedeny výsledky monitoringu výskytu WSMV u obilnin v České republice v průběhu let 2013 – 2016 (Chalupníková et al., 2016).



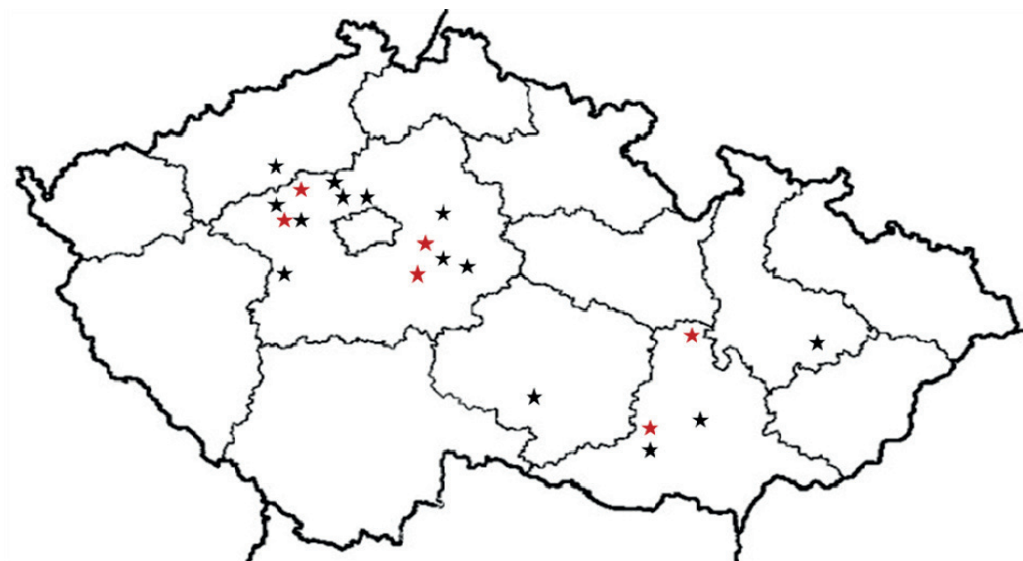
Obrázek 6: Příznaky čárkovité mozaiky u ozimé pšenice, odrůda Hymack (Blansko, foto J. Kumar)

Tabulka 2: Monitoring výskytu WSMV u obilnin v ČR (Chalupníková et al., 2016)

Rok	Plodina	Počet testovaných vzorků	Počet testovaných polí	Počet pozitivních WSMV	pole s výskytem WSMV
2013	Ozimá pšenice	97	13	10	4
	Ozimý ječmen	73	10	0	
	Jarní ječmen	5	1	0	
2014	Ozimá pšenice	62	13	5	5
	Ozimý ječmen	45	9	0	
2015	Ozimá pšenice	249	15	4	2
	Ozimý ječmen	37	8	0	
	Jarní ječmen	4	2	0	
	Výdrol	18	4	1	1
2016	Ozimá pšenice	255	53	18	8

Ozimý ječmen	27	5	0	
Jarní ječmen	4	1	0	
Celkem	876	134	56	20

Výskyt WSMV byl zaznamenán náhodně jen u jednotlivých rostlin. Na šesti polích byl však zaznamenán plošný výskyt viru (viz. Obr. 7).



Obrázek 7: Lokality výskytu viru čárkovité mozaiky v porostu pšenice v ČR

Černé hvězdičky označují výskyt WSMV na ojedinělých rostlinách

Červené hvězdičky označují plošné výskyty WSMV.

V uvedených lokalitách a roce byly zaznamenány plošné výskyty WSMV:

2013: Bor (Milý) - okres Kladno, Zászkalská - okres Beroun, Hnojnice - okres Louny, Lipany - okres Praha

2014: Krymlov - okres Praha - východ, Zásmuky - okres Kolín, Příbram, Beřovice - okres Kladno, Lichoceves- okres Praha-západ

2015: Prusice - okres Praha- východ, Suchohrdly u Miroslavi - okres Znojmo, Tučín - okres Přerov

2016: Rančířov - okres Jihlava, Kněževes - okres Rakovník, Lišany-Kocanda - okres Rakovník, Na Ďolíkách-okres Rakovník, Hlíný-okres Tábor, Bezděčí-

okres Blansko, Nehvizdy - okres Praha -východ, Žabčice - okres Brno-venkov.

10. DIAGNOSTIKA VIRU ČÁRKOVITÉ MOZAIKY PŠENICE

Virus čárkovité mozaiky pšenice lze identifikovat dle příznaků na listech (viz kapitola 5. Příznaky WSMV) za předpokladu zkušenosti s určováním tohoto viru. Případné příznaky choroby je však vhodné potvrdit laboratorními testy s použitím technik jako jsou sérologické metody TAS/DAS-ELISA či molekulárními metodami: RT-PCR, RT-qPCR.



Obrázek 8: příznaky čárkovité mozaiky- nekrotické žloutnutí a postupné vysychání listu u ozimé pšenice, odrůda Cladwell (Ruzyně, foto J. Kumar)



Obrázek 9: příznaky čárkovité mozaiky a silné nekrotické žloutnutí listu u ozimé pšenice, odrůda Florida (Ruzyně, foto J. Kumar)



Obrázek 10: příznaky čárkovité mozaiky, silné nekrotické žloutnutí a postupné usychání listu u ozimé pšenice, odrůda Tobak (Ruzyně, foto J. Kumar)



Obrázek 11: příznaky čárkovité mozaiky a silné nekrotické žloutnutí listu u ozimé pšenice, odrůda Asano (Ruzyně, foto J. Kumar)

10.1 DETEKCE VIRU POMOCÍ TAS/DAS-ELISA

Dva obdobné komerční systémy dostupné k detekci WSMV jsou sérologické metody DAS-ELISA (Double Antipody Sandwich-Enzyme Linked Immuno Sorbent Asssay) a TAS-ELISA (Triple Antipody Sandwich-Enzyme Linked Immuno Sorbent Asssay). V laboratoři VÚRV se pro detekci WSMV používají oba ELISA kity (od firmy SEDIAG, France). Na rozdíl od DAS-ELISA, TAS-ELISA využívá dva konjugáty: A (Conjugate –A), který je monoklonální (mouse monoclonal antibodies) a B (Conjugate B) což je specifická myší protilátka (anti-mouse species Ig). Oba jsou společně navázané s alkalickou fosfatázou. U metody TAS-ELISA je větší předpoklad specifčnosti detekce

WSMV. Dle našich zkušeností je možné oba dva typy ELISA (DAS i TAS) je používat pro rutinní detekci WSMV.

Pracovní postup zahrnuje následující kroky:

1. Potahové protilátky rozpustit v protahovacím pufru (Coating Buffer 1X) podle návodu. Promíchat a nanést 100 μ l do každé jamky. Inkubovat 2 hod při 37°C.
2. Desky třikrát promýt promývacím pufrem (Washing Buffer 1X)
3. 1 g vzorku homogenizovat v 10 ml extrakčního pufru (Extraction Buffer 1X). Nanést 100 μ l do každé jamky. Inkubovat po dobu 16 hod (přes noc) při 4°C.
4. Desky třikrát promýt promývacím pufrem (Washing Buffer 1X)
5. Rozpustit antibody-alkalická fosfatáza konjugát v konjungačním pufru (Conjugate Buffer 1X) dle doporučení. Při TAS-ELISA je nutno těsně před použitím namíchat konjugáty A a B v poměru 1:1. Pak se konjugáty promíchají a nanese se 100 μ l do každé jamky. Inkubovat 2 hod při 37°C.
6. Desky třikrát promýt promývacím pufrem (Washing Buffer 1X)
7. Rozpustit 1 mg pNPP / ml substrátového pufru (Substrate Buffer 1X) těsně před použitím. Promíchat a nanést 100 μ l do každé jamky. Inkubovat při teplotě 37° ve tmě.
8. změřit spektrofotometricky absorbanci při 405 nm (1 hod. a 2 hod. od nanesení substrátu.

Použité pufry:

- Protahovací pufr (Coating Buffer 1X) pH 7,4

(1,59 g Na_2CO_3 + 2,93 g NaHCO_3 + 0,2 g NaN_3 + 5 mg Bromocresol purpure)
rozpustit v 1000 ml destinované vody

- PBS pufr 1X, pH 7,4

V 1000 ml destilované vody rozpustit 8g NaCl, 2,9 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$

- Extrakční pufr 1X pH 7,3

V 1000 ml pufru PBS (1X) se rozpustí 10 g PVP (Mw 10000-40000) a 0,5 ml Tween 20.

- Protahovací pufr pH 9,6

V 1000 ml destilované vody se rozpustí 1,59 g Na₂CO₃, 2,93 g NaHCO₃, 0,2 g NaN₃ a 5 mg roztok Bromocresol purple

- Konjugační pufr, pH 7,4

V 1000 ml pufru PBS-T se rozpustí 2 g BSA a 40 mg roztok Cong red

- Substrátový pufr, pH 9,8

V 1000 ml destilované vody se rozpustí 97 ml roztok Diethanolamine a 0,2 g NaN₃

10.2 DETEKCE VIRU POMOCÍ RT-PCR

Detekce WSMV pomocí RT-PCR zahrnuje několik navzájem navazujících postupů, jako jsou izolace celkové RNA, syntéza cDNA (reverzní transkripce), amplifikace cDNA (PCR), elektroforetické separace amplifikovaných PCR produktů a vizualizace amplifikovaných produktů PCR (barvením Syber Greenem).

Izolace celkové RNA

Homogenizace

Pro izolaci RNA je potřeba 0,1 g rostlinného pletiva. Vhodnějším se jeví homogenizovat větší množství vstupního materiálu a z homogenátu 0,1 g odvážit potřebné množství. Vzorky se homogenizují v tekutém dusíku. U vzorků uchovávaných při -80° C je potřeba dbát na to, aby nedošlo k jejich rozmrazení. Vzorky se odebírají jednotlivě z mrazicího boxu. Každý vzorek je nutné dostatečně homogenizovat v předmražené třecí misce a do 2 ml sterilní mikrozkušavky odvážit maximálně 0,1 g homogenátu. Lepších výsledků izolace RNA lze dosáhnout s 60-70 mg vzorku. Mikrozkušavky je také možno předmrazit krátkým ponořením do tekutého dusíku. Je velmi důležité nepřesáhnout danou váhu, neboť u kolonkových metod izolace nukleových

kyselin dochází v tomto případě ke sníženému výtěžku i kvality NA. Jakmile jsou vzorky navážené, je opět nutno zabránit jejich rozmrazení před samotnou izolací - vhodné je uchování v tekutém dusíku nebo v mrazicím boxu.

Protokol izolace RNA

Existuje několik způsobů izolace RNA. V této metodice je uveden tzv. kolonkový způsob izolace. Tato izolační metoda je založena na zjištění, že nukleové kyseliny v přítomnosti tzv. chaotropních solí adherují na silikátový povrch. Výhodou metody založené na adsorpci na silikát je rychlost a jednoduchost, proto jsou na ní založeny komerční soupravy (kity) pro rutinní extrakce RNA. Kity jsou optimalizovány pro použití na konkrétní typ a množství vzorku a poskytují standardizované výsledky. Snadnost použití kitů je dále zvýšena tím, že obvykle používají nástavce do mikrozkušavek, obsahující jemný filtr, který zadrží silikátové částice. Zpracování pak probíhá tak, že jsou roztoky promývány přes kolonku (filtr se zachycenými částicemi). Namísto tradičního silikátu se u kitů často využívá speciálních pryskyřic, které mají různě upravené složení pufrů tak, že např. preferují při adsorpci molekuly nukleové kyseliny určitého velikostního rozpětí.

Doporučuje se použití komerční soupravy Spectrum™ Plant Total RNA Kit (Sigma - kat.č. STRN10, STRN50 a STRN250).

Protokol izolace RNA komerční soupravou Spectrum™ Plant Total RNA Kit (Sigma)

Lyzace

1. Předem si nachystat směs lyzačního pufru s 2-mercaptoethanolem (na každý vzorek je zapotřebí 500µl Lysis solution a 5 µl 2-ME)
2. Předem si nachystat rovněž mikrozkušavky s kolonkou s modrým kroužkem (Filtration column), s kolonkou s červeným kroužkem (Binding column) a další dvě mikrozkušavky bez kolonek.
3. Do homogenizovaného vzorku napipetovat 500 µl lyzačního roztoku předem namíchaného s 2-mercaptoethanolem a 2 minuty vortexovat.

Přečištění-filtrace

4. Všechny vzorky vložit do vodní lázně a inkubovat 5 min při 56 °C. Centrifugovat vše 3 min při 14000 RPM.
5. Přepipetovat supernatant na Filtration column (modrý kroužek), zavřít a centrifugovat 1 min při 14000 RPM.

Navázání RNA na kolonku

6. Kolonku zahodit a připipetovat po 500 µl Binding solution, zvortexovat a 700 µl napipetovat na Binding column. To provést postupně se všemi vzorky.
7. Poté kolonky centrifugovat 1 min při 14000 RPM. Vylít supernatant, osušit Collection tube o filtrační papír, vrátit do ní kolonku, napipetovat zbytek směsi a centrifugovat 1 min při 14000 RPM.
8. Vylít supernatant, osušit Collection tube o filtrační papír a vrátit do ní kolonku.

Promytí RNA na kolonce

9. Do kolonky napipetovat 500 µl Wash Solution 1 a centrifugovat 1 min při 14000 RPM.
10. Vylít supernatant, osušit Collection tube o filtrační papír a vrátit do ní kolonku.
11. Do kolonky napipetovat 500 µl Wash Solution 2 a centrifugovat 30 s při 14000 RPM.
12. Vylít supernatant, osušit Collection tube o filtrační papír a vrátit do ní kolonku.
13. Do kolonky znovu napipetovat 500 µl Wash Solution 2 a centrifugovat 30 s při 14000 RPM.
14. Vylít supernatant, osušit Collection tube o filtrační papír a vrátit do ní kolonku.
15. Do kolonky znovu napipetovat 500 µl Wash Solution 2 a centrifugovat 30 s při 14000 RPM.
16. Vylít supernatant, osušit Collection tube o filtrační papír a vrátit do ní kolonku.

17. Do kolonky znovu napipetovat 500 μ l Wash Solution 2 a centrifugovat 30 s při 14000 RPM.

Vypláchnutí RNA z kolonky

18. Přendat kolonku do nové mikrozkuhavky a centrifugovat 1 min při 14000 RPM, aby se kolonka osušila.

19. Poté kolonku vyjmout a vložit opatrně do nové popsané 2 ml eppendorfky (jsou v kitu). Do středu kolonky (přímo na membránu) napipetovat 50 μ l Elution Solution, zavřít víčko a nechat stát 1 min při pokojové teplotě.

Centrifugovat kolonku 1 min při 14000 RPM. Vyndat kolonku z eppendorfky a zahodit ji.

20. Změřit koncentraci RNA.

21. Naředit vzorek pomocí autoklávané ddH₂O na koncentraci 30 ng/ μ l.

Kvalitu izolované RNA měříme spektrofotometricky (NanoDrop2000, ThermoScientific, USA). Měří se při vlnových délkách 260, 230 a 280 nm. To umožní hodnocení čistoty vzorku, očekávané poměry jsou pro RNA 2,0. Poměr absorbancí 260/280 menší než 1,75 svědčí pro obsah kontaminujících bílkovin. Absorbance při 230 nm značí nečistoty, jako jsou sacharidy, fenolické sloučeniny nebo aromatické složky. Při výpočtu koncentrace optická hustota 1 odpovídá přibližně 40 mg/l pro RNA.

Syntéza cDNA (reverzní transkripce):

cDNA se syntetizuje za použití reverzní transkripce kit (Promega, USA).

Postup syntézy cDNA:

- a) Do mikrozkuhavky přidat 1 μ l RNA + 10 μ l ddH₂O + 0,5 μ g random primer a nechat inkubovat po dobu 5 minut při 70°C.
- b) Mikrozkuhavky s reagensii okamžitě zchladit do ledu
- c) Pak přidat 5 μ l 5X M-MLV reakční pufr + 25 U (jednotek) Recombinant RNasin® Ribonuclease + 1,25 μ l 10 mM směsi dNTP + 200 U (jednotek) M-MLV reverzní transkriptázy enzym a přidat do 25 μ l ddH₂O. Tato směs se inkubuje při teplotě 37 °C po dobu 1 hodiny.

Reakce se zastaví zahříváním na teplotu 70 °C po dobu 10 minut a následným ochlazením na ledu.

Amplifikace cDNA (samotná metoda PCR)

Amplifikace cDNA je provedena za použití DreamTaq Green PCR Master Mix (2X) do firmy Thermo Scientific (USA) následovně:

- a) Připravit reakční směs (25 µl) do mikrozkušavky obsahující - 20 µl ddH₂O + 12,5 µl DreamTaq Green PCR master mix 2X (složený z DreamTaq™ DNA polymerase, DreamTaq Green buffer, MgCl₂ a dNTPs) + 0,6 µl primery WSMspeFw a WSMspeRv (z tabulky 3) + 1 µl cDNA)
- b) PCR podmínky: počáteční denaturace při 94 °C po dobu 5 minut, následuje 30 amplifikačních cyklů: 94 °C na 45 s; 66 °C na 30 s; a 72 °C na 1 min) a konečné prodloužení při 72 °C po dobu 10 min.

Elektroforézy a vizualizace amplifikovaných produktů PCR

- a) Produkty PCR jsou separovány pomocí elektroforézy na 100 V (Voltů) po dobu 30 min. až 1 hod. v závislosti na velikosti gelu.
- b) Připraví se 1,5 % agarózový gel v 1X TAE pufru (40 mM Tris-acetate, 1 mM EDTA, pH ~8.3), který se rozpustí v mikrovlnné troubě. Po mírném vychladnutí se do roztoku gelu přidává SYBR® Safe DNA Gel Stain (Invitrogen, USA) (do 100 µl roztoku gelu 1 µl SYBR safe)
- c) Takto připravený roztok gelu s SYBR safe se přelije do elektroforetické vaničky pro gely, kde je vložen elektroforetický hřeben pro vytvoření jamek na gelu.
- d) Po ztuhnutí je gel přemístěn do elektroforetické vaničky obsahující 1x TAE pufr. K jednotlivým vzorkům PCR produktů (6 µl) se přidává 1 µl 6x DNA loading dye (Thermo Scientific, USA) a jsou nanášeny do jamek gelu. Pro určení velikosti produktu se do každé jednotlivé jamky přidává 2 µl 100 kb DNA ladder (marker) (Thermo Scientific, USA). Takto připravené vzorky jsou elektroforeticky separovány a následně

vizualizovány na UV a hodnoceny pomocí dokumentačního systému GelDoc (Bio-rad, USA).

Tabulka 3: Primery pro detekci WSMV

Název primerů	Sekvence primerů (5'-3')	Nukleotidy (nt)	Velikost produktu (pb)	Citace
WSMspeFw	GCCTCGACACGGGAGCTA'	8397-8417	358	Gadiou et al. 2009
WSMspeRv	ACCCATCCAGGAAGCAAGG	8736-8754		

11. POŠKOZENÍ POROSTU A VÝNOSOVÉ ZTRÁTY ZPŮSOBENÉ WSMV

Vyhodnocení a určení míry poškození porostů napadených virem WSMV je velmi variabilní. Míra poškození porostu závisí na době, po kterou je daný porost infekci vystaven. Obecně platí, že pokud k infekci porostu dojde brzy po vzejití ozimých obilnin (pšenice), má to za následek obvykle větší poškození porostu (Hunger et al., 1992). Míra napadení rostlin v porostu nemusí vždy odpovídat výnosovým ztrátám, neboť existuje variabilita v kompenzačních schopnostech jednotlivých odrůd. Infekce WSMV má rovněž za následek výrazné snížení kořenového větvení a to až 50% redukci. Redukce kořenů vede ke snížení příjmu vody a živin, což negativně ovlivňuje výnos. O to více je pak dopad výraznější, je-li ročník nebo stanoviště sušší. WSMV (a zejména časná infekce) také způsobuje menší odnožování a výrazně snižuje velikost a hmotnost zrna (Langham a Glover 2005; Lanoiselet et al., 2008). Z ČR ani z Evropy však nejsou známy poznatky o výnosových ztrátách způsobených WSMV.



Obrázek 12: příznaky čárkovité mozaiky a chlorotického žloutnutí listů u ozimé pšenice odrůda Hymack (Blanensko, foto J. Kumar)



Obrázek 13: příznaky čárkovité mozaiky a chlorotického žloutnutí listů u ozimé pšenice odrůdy Bodyček (Rakovnicko, foto J. Kumar)

12. REZISTENCE OBIILNIN VŮČI WSMV

Ochrana obilnin proti WSMV a jeho přenašeči je omezená. Odolnost hostitelské rostliny, či zemědělské plodiny je nejefektivnější způsob jak dalšímu přenosu zabránit a snížit výnosové ztráty (Thomas et al., 2004, Richardson et al., 2014). Doposud byly identifikovány 3 geny rezistence vůči WSMV: Wsm1, Wsm2 a Wsm3. Tyto rezistentní geny byly introdukovány do šlechtěných linií pšenice. Nicméně, Wsm1 a Wsm2 jsou velmi citlivé na průběh teploty. (Seifers et al. 2013). Pouze gen Wsm3 se ukázal být účinný při nárůstu teplot (Fahim et al. 2012). Nejpoužívanější gen rezistence, Wsm2, byl úspěšně zaveden v několika odrůdách pšenice: u odrůd RonL (Seifers et al., 2006), Snowmass (Haley et al., 2011), Clara CL (Martin et al., 2014) a Oakley CL (Zhang et al., 2015). Všechny uvedené odrůdy pochází z Ameriky.

V Evropě ani v České republice nejsou známy odrůdy pšenice ani jiných druhů obilnin odolné vůči WSMV.

13. RIZIKOVÉ FAKTORY VÝSKYTU VIRU ČÁRKOVITÉ MOZAIKY PŠENICE

Mezi rizikové faktory výskytu WSMV patří charakter stanoviště, průběh počasí, nesprávná agrotechnika podporující rozvoj populací přenašečů a rezervoárů viru v oblastech intenzivního pěstování obilnin (především pšenice).

Souhrn faktorů ovlivňujících výskytu viru čárkovité mozaiky pšenice lze shrnout následovně:

- **Výdrol** je významným zdrojem infekce, zůstává na poli nebo okolních pozemcích než vyrostou nově vyseté ozimy. Při vysokých teplotách jsou roztoči aktivnější a přemísťují se z výdrolu a zeleného mostu na nově vzešlé porosty a infikují je virem. Čím dříve seté porosty, tím je vyšší riziko napadení virem.
- **Nedostatečná ochrana travovitých plevelů** v porostech obilnin (zájmena ozimých) - jejich přítomnost v porostu kulturních plodin zvyšuje riziko abundance přenašečů i zdroje viru, často je zvýšený výskyt spojen s minimalizačními technologiemi
- **Pěstování jařin** v blízkosti infikovaného porostu ozimých obilnin
- **Blízkost lesů nebo zalesněných pásů** vytváří lepší podmínky pro přenašeče
- **Vlhký a teplý průběh léta** zajišťuje lepší životní podmínky pro roztoče
- **Teplé a suché počasí na podzim** vytváří ideální podmínky pro reprodukci a šíření roztoče a zároveň napomáhá rozvoji choroby u obilnin (pšenice)
- **Mírné teploty brzy na jaře** zvyšují aktivitu roztoče na jarních obilninách a popřípadě může docházet k sekundárním infekcím ozimů (pšenice)

14. OCHRANNÁ OPATŘENÍ VŮČI WSMV

Ochrana plodin a zejména ozimých obilnin spočívá především ve správných agrotechnických postupech, které minimalizují aktivitu přenašečů a také počet infikovaných rostlin. Pěstování odolných odrůd je opatření, které může zamezit výnosovým ztrátám. V ČR (ani v Evropě) však není známa úroveň rezistence registrovaných odrůd pšenice či ječmene vůči této chorobě.

Agrotechnická opatření zahrnují:

- setí v pozdních termínech, zejména v oblastech s vysokým infekčním tlakem viróz
 - Likvidace výdrolu v okolí pole nejméně 10 dní před setím ozimů pro zamezení aktivity přenašečů
 - Regulace trávovitých plevelů u obilnin, jsou to hostitelé pro viru i roztoče
 - Omezení minimalizačních technologií při pěstování obilnin v oblastech s častějším výskytem virů
-

15. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Amrine JW Jr 2003. Catalog of the eriophyoidea. A working catalog of the Eriophyoidea of the world.
<http://insects.tamu.edu/research/collection/hallan/acari/eriophyidae>.
Accessed 13 March 2011
- Atkinson TG, Grant N 1967. An evaluation of streak mosaic losses in winter wheat. *Phytopathology*, 57: 188-192
- Brakke MK 1971. Wheat streak mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 48. Assoc. Appl. Biol., Wellesbourne, UK.
http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpv_no=48
- Choi IR, Hall JS, Henry M, Zhang L, Hein GL, French R, Stenger DC 2001. Contributions of genetic drift and negative selection on the evolution of three strains of wheat streak mosaic *Tritimovirus*. *Arch. Virol.* 146 :619-628.
- Christian ML, Willis WG 1993. Survival of wheat streak mosaic virus in grass hosts in Kansas from what harvest to fall wheat emergence. *Plant Disease*, 77: 239-242.
- Connin RV 1956. The host range of the wheat curl mite, vector of wheat streak mosaic. *Journal of Economic Entomology*, 48: 1-4.
- Coutts BA, Banovic M, Kehoe MA, Severtson DL, Jones RAC 2014. Epidemiology of Wheat streak mosaic virus in wheat in a Mediterranean-type environment. *European Journal of Plant Pathology*, 140: 797-813.
- Coutts BA, Hammond NEB, Kehoe MA, Jones RAC 2008a. Finding Wheat streak mosaic virus in southwest Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*, 59: 836-843.
- Coutts BA, Strickland GR, Kehoe A, Severtson DL, Jones RAC 2008b. The epidemiology of Wheat streak mosaic virus in Australia: case histories, gradients, mite vectors, and alternative hosts. *Australian Journal of Agricultural Research*, 59: 844-853.
- Dráb T, Svobodová E, Ripl J, Jarošová J, Rabenstein F, Melcher U, Kundu JK 2014. SYBR Green I based RT-qPCR assays for the detection of RNA viruses of cereals and grasses. *Crop and Pasture Science*, 65 (12): 1323-1328.
- Dráb T, Svobodová E, Ripl J, Slavíková L, Kumar J 2015. Rezervoáry virových patogenů obilnin u trav. *Úroda*, 63(9): 26-28.
- Edwards J, Murray G, Wratten K, Knihinicki D 2006. Wheat streak mosaic virus and the wheat curl mite. GRDC Research Update.
http://www.grdc.com.au/growers/res_upd/south/s06/edwards.htm.
- Ellis MH, Rebetzke GJ, Kelman WM, Moore CS, Hyles JE 2004. Detection of Wheat streak mosaic virus in four pasture grass species in Australia. *Plant Pathology*, 53: 239.

Fahim M, Larkin PJ, Haber S, Shorter S, Lonergan PF, Rosewarne GM 2012. Effectiveness of three potential sources of resistance in wheat against wheat streak mosaic virus under field conditions. *Australas Plant Pathology*, 41: 301-309.

French R, Stenger DC 2002: Wheat streak mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 398. Assoc. Appl. Biol., Wellesbourne, UK.

<http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpv no=393>.

Gadiou S, Kúdela O, Ripl J, Rabenstein F, Kundu JK, Glasa M 2009. An amino acid deletion in Wheat streak mosaic virus capsid protein distinguishes a homogeneous group of European isolates and facilitates their specific detection. *Plant Disease*, 93: 1209-1213

Hadi BAR, Langham MAC, Osborne L, Tilmon KJ 2011. Wheat streak mosaic virus on wheat: biology and management. *Journal of Integrated Pest Management*, 2, doi:10.1603/IPM10017.

Haley SD, Johnson JJ, Peairs FB, Stromberger JA, Heaton EE, Seifert SA, Kottke RA, Rudolph JB, Martin TJ, Bai G, Chen X, Bowden R, Jin Y, Kolmer JA, Seifers DL, Chen M, Seabourn BW 2011: Registration of ‘Snowmass’ wheat. *Journal of Plant Registrations*, 5: 87-90.

Hill JH, Martinson CA, Russell WA 1974. Seed transmission of maize dwarf mosaic and wheat streak mosaic viruses in maize and response of inbred lines. *Crop Sci.*, 14: 232-235.

Hunger RM, Sherwood JL, Evans CK, Montana JR 1992. Effects of planting date and inoculation date on severity of wheat streak mosaic in hard red winter wheat cultivars. *Plant Disease*, 76: 1056-1060.

Ito D, Miller Z, Menalled F, Moffet M, Burrows M 2012. Relative susceptibility among alternative host species prevalent in the Great Plains to Wheat streak mosaic virus. *Plant Disease*, 96: 1185-1192.

Jones RAC, Coutts BA, Mackie AE, Dwyer GI 2005. Seed transmission of Wheat streak mosaic virus shown unequivocally in wheat. *Plant Disease*, 89: 1048-1050

Langham M, Glover K 2005. Effects of *Wheat streak mosaic virus* (genus: Tritimovirus; family: Potyviridae) on spring wheat. *Phytopathology*, 95: S56.

Lanoiselet VM, Hind-Lanoiselet TL, Murray GM 2008. Studies on the seed transmission of Wheat streak mosaic virus. *Australas Plant Pathology*, 37: 584-588

Martin TJ, Zhang G, Fritz AK, Miller R, Chen M 2014. Registration of ‘Clara CL’ Wheat. *Journal of Plant Registrations*, 8: 38-42.

McKinney HH 1937. Mosaic diseases of wheat and related cereals. US Department of Agriculture (Circular No 442)

Murray GM, Knihinicki DK, Wratten K, Edwards J 2005. Wheat streak mosaic and the wheat curl mite. NSW Department of Primary Industries, Orange NSW Australia. Primefact 99.

Navia D, de Mendonca RS, Skoracka A, Szydło W, Knihinicki D, Hein GL, da Silva Pereira PRV, Truol G, Lau D 2013. Wheat curl mite, *Aceria tosichella*, and transmitted viruses: an expanding pest complex affecting cereal crops. *Experimental and Applied Acarology*, 59: 95-143.

Oana D, Ziegler A, Torrance L, Gasemi S, Danci M 2009. Potyviridae Family-short review. http://www.usab-tm.ro/Journal-HFB/romana/Lucrari_2009_paginate/94.pdf

Price JA, Workneh F, Evett SR, Jones DC, Arthur J, Rush CM 2010. Effects of Wheat streak mosaic virus on root development and water-use efficiency of hard red winter wheat. *Plant Disease*, 94: 766-770.

Rabenstein F, Stenger DC, French R 2004. Genus Tritimovirus. Pages 398-402 in: *Viruses and Virus Diseases of Poaceae (Gramineae)*. H. Lapierre and P.-A. Signoret, eds. INRA Editions.

Rabenstein F, Seifers DL, Schubert J, French R, Stenger DC 2002. Phylogenetic relationships, strain diversity and biogeography of tritimoviruses. *Journal of General Virology*, 83: 895-906.

Richardson K, Miller AD, Hoffmann AA, Larkin P 2014. Potential new sources of wheat curl mite resistance in wheat to prevent the spread of yield-reducing pathogens. *Exp Appl Acarol*, 64:1-19.

Sabelis MW, Bruin J 1996. Evolutionary ecology: life history patterns, food plant choice and dispersal. In: Lindquist EE, Sabelis MW, Bruin J (eds) *Eriophyoid mites: their biology, natural enemies and control*. Elsevier Science BV, Amsterdam, pp 329-366

Seifers DL, Harvey TL, Kofoid KD, Stegmeier WD 1996. Natural infection of pearl millet and sorghum by wheat streak mosaic virus in Kansas. *Plant Disease*, 80: 179-185.

Seifers DL, Martin TJ, Harvey TL, Haber S, Haley SD 2006: Temperature sensitive and efficacy of wheat streak mosaic virus resistance derived from CO960293 wheat. *Plant Disease*, 90: 623-628.

Seifers DL, Martin TJ, Fellers JP 2010. An experimental host range for *Triticum mosaic virus*. *Plant Disease*, 94:1125-1131

Seifers DL, Haber S, Martin TJ, Zhang G 2013. New sources of temperature sensitive resistance to wheat streak mosaic virus in wheat. *Plant Disease*, 97: 1051-1056.

Sill WH Jr, Connin RV 1953. Summary of the known host range of wheat streak mosaic virus. *Transactions of the Kansas Academy of Science*, 56: 411-417.

Somensen HW, Sill WH Jr. 1970. The wheat curl mite, *Aceria tulipae* Keifer, in relation to epidemiology and control of wheat streak mosaic. *Kans. State Univ. Agric. Exp. Stn. Res. Publ.*, 162.

Sill WH Jr, Agusiobo PC 1955. Host range studies of the wheat streak mosaic virus. *Transactions of the Kansas Academy of Science*, 56: 411-417.

Skoracka A, Rector B, Kuczyński L, Szydło W, Hein G, French R 2014. Global spread of wheat curl mite by its most polyphagous and pestiferous lineages. *Annals of Applied Biology*, 165: 222-235.

Slykhuis JT, Andrews JE, Pittman UJ 1957. Relation of date of seeding winter wheat in southern Alberta to losses from wheat streak mosaic, root rot, and rust. *Canadian Journal of Plant Science*, 37: 113-127.

Slykhuis JT 1955. *Aceria tulipae* Keifer (Acarina: Eriophyidae) in relation to the spread of wheat streak mosaic. *Phytopathology*, 45: 116-128

Stenger DC, Hall JS, Choi I, French R 1998. Phylogenetic relationships within the family Potyviridae: *Wheat streak mosaic virus* and *Brome streak mosaic virus* are not members of the genus *Rymovirus*. *Phytopathology*, 88:782-787.

Truol G, Sagadin M, Rodriguez M 2010. Fox tail millet (*Setaria italica* L.): a new reservoir species of the Wheat streak mosaic virus (WSMV) in the province of Buenos Aires. *Biocell*, 34:A135.

Thomas JB, Conner RL, Graf RJ 2004. Comparison of different sources of vector resistance for controlling wheat streak mosaic in winter wheat. *Crop Science*, 44: 125-130.

Vacke J, Zacha V, Jokeš M 1986. Identification of virus in wheat new to Czechoslovakia. *Proc. X. Czechoslovak Plant Prot. Conference, Brno*, pp. 209-210.

Vincent SJ, Coutts BA, Jones RAC 2014. Effects of introduced and indigenous viruses on native plants: exploring their disease causing potential at the agro-ecological interface. *PLoS ONE*, 9(3): e91224.

Wegulo SN, Hein GL, Klein RN, French RC 2008. Managing wheat streak mosaic. University of Nebraska, Lincoln (Extension EC1871)

Zhang G, Martin TJ, Fritz AK, Miller R, Chen M, Bowden RL, Johnson J. 2015. Registration of 'Oakley CL' Wheat. *Journal of Plant Registrations*, 9: 190-195.

16. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE

Dráb T, Svobodová E, Ripl J, Jarošová J, Rabenstein F, Melcher U, Kundu J K 2014. SYBR Green I based RT-qPCR assays for the detection of RNA viruses of cereals and grasses. *Crop and Pasture Science*, 65(12): 1323-1328.

Gadiou S, Kudela O, Ripl J, Rabenstein F, Kundu JK, Glasa M 2009. An amino acid deletion in Wheat streak mosaic virus capsid protein distinguishes a homogeneous group of European isolates and facilitates their specific detection. *Plant Disease*, 93:1209–1213.

Ripl J, Kumar J 2010. Virová čárkovitá mozaika pšenice v České republice. *Rostlinolékař*, 2: 24.

Chalupníková J, Kundu JK, Singh KS, Bartaková P, Beoni E 2016. *Wheat streak mosaic virus*: incidence in field crops, potential reservoir within grass species and uptake in winter wheat cultivars. *Journal of Interrogative Agriculture* (in Press)

Název: Virová čárkovitá mozaika pšenice:choroba s narůstajícím významem
Autoři: Kumar J., Slavíková L., Chalupníková J.
Vydal: Výzkumný Ústav Rostlinné Výroby, v.v.i.
Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně
Tisk: 100 ks
Počet stran: 40
Vydání: první
Rok vydání: 2016
ISBN: 978-80-7427-209-7
© Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., 2016



(Čárkovitá mozaika na listu ozimé pšenice, odrůda Turandot foto J. Kumar)

ISBN: 978-80-7427-209-7



9 788074 272097