



národní  
úložiště  
šedé  
literatury

**Určování a hodnocení chorob obilnin. Vliv biotických a abiotických stresů na výskyt a vývoj chorob.**

Věchet, Lubomír  
2009

Dostupný z <http://www.nusl.cz/ntk/nusl-387406>

Dílo je chráněno podle autorského zákona č. 121/2000 Sb.

Tento dokument byl stažen z Národního úložiště šedé literatury (NUŠL).

Datum stažení: 06.05.2024

Další dokumenty můžete najít prostřednictvím vyhledávacího rozhraní [nusl.cz](http://nusl.cz) .



**Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.  
Odbor genetiky, šlechtění a kvality produkce  
Praha – Ruzyně**

**Crop Research Institute  
Division of Plant Genetics, Breeding and Product Quality  
Prague - Ruzyně**



**Určování a hodnocení chorob obilnin. Vliv biotických a  
abiotických stresů na výskyt a vývoj chorob.**

**Determination and evaluation of cereal diseases. Influence of  
biotic and abiotic stresses on disease occurrence and development.**

7. odborný seminář  
7th specialist seminar  
26. 11. 2009.



Foto na titulní straně: BC. František Havelka, Ing. Lubomír Věchet, CSc.  
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.,  
161 06 Praha 6 – Ruzyně, Drnovská 507  
Odborný garant: Ing. Lubomír Věchet, CSc.  
**ISBN: 978-80-7427-010-9**

## Obsah

<b>DIAGNOSTIKA A HODNOCENÍ CHOROB ROSTLIN. VLIV FAKTORŮ VNĚJŠÍHO PROSTŘEDÍ. - DIAGNOSIS AND EVALUATION PLANT DISEASES. INFLUENCE FACTORS OF OUTSIDE ENVIRONMENT.</b>	<b>1</b>
<b>ZJIŠŤOVÁNÍ PATOGENITY PŮVODCE PADLÍ JAKO NEZBYTNÁ SOUČÁST ŠLECHTĚNÍ JEČMENE NA ODOLNOST. - PATHOGENICITY INVESTIGATION IN THE POWDERY MILDEW POPULATION AS AN INTEGRAL PART OF BREEDING BARLEY FOR RESISTANCE</b>	<b>5</b>
<b>TILLETIA SPP. A FUSARIUM SPP. NA OZIMÉ PŠENICI - TILLETIA SPP. A FUSARIUM SPP. ON WINTER WHEAT</b>	<b>8</b>
<b>LABORATÓRNA METÓDA IDENTIFIKÁCIE GENETICKÝCH ZDROJOV REZISTENCIE VOČI MÚČNATKE TRÁVOVEJ NA PŠENICI - LABORATORY METHOD IDENTIFICATION OF RESISTANCE GENETIC SOURCES TO POWDERY MILDEW ON WHEAT</b>	<b>13</b>
<b>PŘÍMÉ TESTY VIRULENCE PADLÍ TRAVNÍHO (BLUMERIA GRAMINIS F.SP. TRITICI) K ODRŮDÁM PŠENICE SE SPECIFICKÝMI GENY REZISTENCE. - DIRECT TESTS VIRULENCE OF POWDERY MILDEW (BLUMERIA GRAMINIS F.SP. TRITICI) TO WHEAT SPECIFIC GENES OF RESISTANCE.</b>	<b>20</b>
<b>VÝSKYT BRANIČNATKY PŠENIČNÉ U JARNÍ PŠENICE A JARNÍHO TRITORDEA V POLNÍCH INFEKČNÍCH TESTECH - INCIDENCE OF SEPTORIA LEAF BLOTCH IN SPRING WHEAT AND SPRING TRITORDEUM IN FIELD INFECTION TESTS</b>	<b>24</b>
<b>DIAGNOSTIKA LISTOVÝCH CHOROB BIOLOGICKY OŠETŘENÉHO JARNÍHO JEČMENE A</b>	<b>31</b>
<b>OZIMÉ PŠENICE - DIAGNOSTICS OF LEAF'S DISEASES ON BIOLOGICALLY TREATED SPRING BARLEY AND WINTER WHEAT</b>	<b>31</b>
<b>VIRULENCE IZOLÁTŮ BRANIČNATKY PŠENIČNÉ (MYCOPHAERELLA GRAMINICOLA) K ODRŮDÁM PŠENICE. - VIRULENCE SEPTORIA TRITICI BLOCH ISOLATES (MYCOPHAERELLA GRAMINICOLA) TO WHEAT CULTIVARS.</b>	<b>37</b>
<b>MOLEKULÁRNÍ MARKERY REZISTENCE VŮČI MYCOPHAERELLA GRAMINICOLA - MOLECULAR MARKERS OF RESISTANCE TO MYCOPHAERELLA GRAMINICOLA</b>	<b>41</b>
<b>ALTERNARIÓZA SOUDOBÉHO SORTIMENTU PŠENIC. - ALTERNARIOSIS OF UP-TO-DATE WHEAT VARIETIES.</b>	<b>48</b>

# **Diagnostika a hodnocení chorob rostlin. Vliv faktorů vnějšího prostředí. - Diagnosis and evaluation plant diseases. Influence factors of outside environment.**

Ing. Lubomír Věchet, CSc.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha - Ruzyně

e-mail: [vechet@vurv.cz](mailto:vechet@vurv.cz)

## **Abstrakt**

Diagnóza je prvním předpokladem pro zjištění výskytu a závažnosti choroby. Ke správné diagnóze je třeba znát charakteristické příznaky choroby. Pokud příznaky choroby nejsou patrné, je třeba provést laboratorní vyšetření. Je nutné rozlišovat mezi intenzitou a výskytem choroby. Faktory vnějšího prostředí ovlivňují vznik a vývoj choroby.

**Klíčová slova:** choroby rostlin; diagnóza; příznaky choroby; faktory vnějšího prostředí

## **Abstract**

The first precondition for detection of disease occurrence and severity is diagnosis. Characteristic symptoms of the disease we have to know for correct diagnosis. As long as symptoms are not visible is necessary to make laboratory examination. To differentiate between intensity and occurrence is necessary. Origin and development of the diseases is influenced by environment.

**Keywords:** plant diseases; diagnosis; disease symptoms; environment factors

Prvním krokem při studiu choroby je rychlá a přesná diagnostika chorob, která je nezbytná před samotným kontrolním měřením. Identifikace napadených rostlin je jeden z prvních kroků v diagnostice chorob rostlin. Měly by být zaznamenány vědecké a obecné názvy rostlin. Je důležité znát specifičnost variety nebo odrůdy. Větší kolísání v náchylnosti ke specifické chorobě se může vyskytnout uvnitř odlišných odrůd rostlinného druhu. Diagnostika je převážně založena na charakteristických symptomech, vyjádřených samotnou ochořelou rostlinou. Ke správné diagnostice je nezbytná identifikace patogena.

V diagnostice jsou důležité tři kroky, které obsahují pečlivé pozorování a klasifikaci skutečnosti, hodnocení skutečnosti a logické rozhodnutí příčiny. Odborná diagnostika musí vycházet z normálního vzhladu napadených druhů rostlin, jejich lokálního vzdušného a půdního prostředí, z podmínek za kterých jsou rostliny pěstovány, z popisu patogenů pro danou oblast a z potenciálu patogena, jako původce choroby. Diagnózu je nejlépe dělat v přítomnosti rostoucích rostlin. Diagnóza je pochybná, když část nebo všechny rostliny odumírají.

Příznaky choroby se hodnotí na různých částech rostlin, na klasech, listech stéblech a kořenech. Zkoušení listů je obvykle považováno za nejlepší počátek v diagnostice. Barva, velikost a okraje skvrn jsou často spojeny s jednotlivým houbovým nebo bakteriálním původcem. Například žloutnutí, které způsobují virové choroby, jako jsou mozaiky, jsou často zaměněny s nevyrovnanou výživou a půdou, která je nadměrně alkalická nebo kyselá. Tyto faktory se zpětně projevují na rostlině. Jiný příkladem mohou být charakteristické příznaky braničnatky pšeničné (*Mycopsharella graminicola*), což jsou hnědé nekrotické podélné skvrny, uvnitř s tmavými pyknidami. V některých případech je však skvrna těžko rozlišitelná, neboť je tvořena ne nekrotickou skvrnou, ale pouze světle zelenou nebo nažloutlou tkání listu

spolu s pyknidami (Obr. 1). V některých případech se musíme zabývat ne jedním, ale i více, většinou dvěma příznaky určité choroby (Obr. 2).

Všeobecné symptomy mohou být klasifikovány jako lokální nebo systémové, primární nebo sekundární a mikroskopické nebo makroskopické. Místní symptomy jsou fyziologické nebo strukturální změny uvnitř omezené plochy tkáně hostitele, tak jako listové skvrny. Systémové příznaky zahrnují reakci větších částí nebo celé rostliny, jako vadnutí, žloutnutí nebo zakrslost. Primární symptomy jsou přímým výsledkem aktivity patogena na napadených tkáních. Sekundární symptomy jsou následkem fyziologických vlivů choroby na vzdálenou tkáň a na napadené orgány. Mikroskopické symptomy choroby jsou projevem choroby ve struktuře buňky nebo v buněčném uspořádání, viděné pod mikroskopem. Makroskopické symptomy jsou projevem choroby, které mohou být viděny vlastníma očima. Specifické makroskopické symptomy jsou klasifikovány do jedné ze čtyř hlavních kategorií: nekrotické, hypoplastické a hyperplastické a hypertrofické (zvětšené).

Příznaky biotických původců chorob rostlin jsou pozorovatelným důkazem aktuálního stavu. Jsou to mycelium houby, spory a tělesa produkující spory. Masa rozmanitých spor, jako spor rzí, na listu může být také důležitá v diagnostice choroby. Padlí travní (Obr. 3) je typicky diagnostikováno pozorováním šedobělavého mycelia a konidií pozorovatelných na povrchu listu.

Někdy nejsou pozorovatelné žádné charakteristické symptomy v polních podmínkách a v takových případech je nutné přinést vzorky do laboratoře pro další testy. Prvním krokem je vytvořit takové podmínky, které dovolují původci choroby růst a možná budou indukovat sporulaci. Patří sem například vložení vzorku do vlhké komůrky a krátké ošetření tamponem se 70% izopropanolem nebo 0,1 – 1% chlornanem sodným. Vytvoření vhodných teplotních podmínek apod. Dalším krokem je izolace, kultivace na různých živných médiích a identifikace původce choroby. Ta je založena na komplexním a specializovaném školení.

PCR a ELISA testy, tak jako další laboratorní testy mohou být použity pro organizmy, které budou růst na umělých médiích. Jiné testy mohou být použity k analýze mastných kyselin patogenních organismů, využití karbohydráz, testování enzymatické aktivity.

Hodnocení intenzity chorob (Kranz, Rotem 1988) hraje klíčovou roli ve fytopatologii. Bez kvantifikace chorob není možný odhad ztrát plodiny a průzkum chorob. Odhad chorob je také důležitý pro mnoho dalších aplikací ve fytopatologii, tak jako je vyšetřování na rezistenci, aplikaci fungicidů, projev vlivu různých ošetření a kontroly chorob. Odhad choroby zahrnuje metody odhadu a odhad intenzity choroby. Intenzita choroby může být vyjádřena buď jako výskyt nebo frekvence anebo závažnost. Výskyt je procento ochořelých rostlin nebo částí rostlin ve vzorku nebo populaci, bez ohledu na jejich jednotlivou závažnost. Závažnost choroby je procento příslušné tkáně hostitele nebo orgánu pokrytého symptomy nebo skvrnami choroby. Závažnost vyplývá z počtu a velikosti skvrn. Tyto dva komponenty závažnosti se mohou měnit nezávisle během rozvoje choroby. Když je hodnota intenzity dělena 100 pak se stává  $y$  ( $0 < y \leq 1$ ) hodnotou použitelnou v rychlosti infekce. Hodnocení intenzity choroby podle jejího výskytu je vhodné pro většinu chorob v jejich časných stádiích epidemie. Vnímání chyb v odhadu choroby záleží na schopnosti člověka rozlišovat vizuálně rozsah ochořelého povrch rostliny. K odhadu a vývoje choroby napříč jejím celým vývojovým cyklem a v různých růstových stádiích rostliny byly vypracovány standardní diagramy anebo popisy. Kromě těchto odhadovacích klíčů existují také počítačové programy k trénování odhadů závažnosti choroby. Odhad choroby se provádí na reprezentativním vzorku plodiny. Vzorky jednotek plodiny (rostliny, listy, ovoce apod.) jsou z plodiny odebírány náhodně nebo ze standardních pokusných dílců. V testech na dílcích je třeba odebrat několik vzorků v různých bodech dílce.

Faktory vnějšího prostředí můžeme rozdělit na biotické a abiotické. Z abiotických faktorů je to zejména vliv počasí a to zejména ovlhčení povrchu listu, vzdušná vlhkost, srážky,

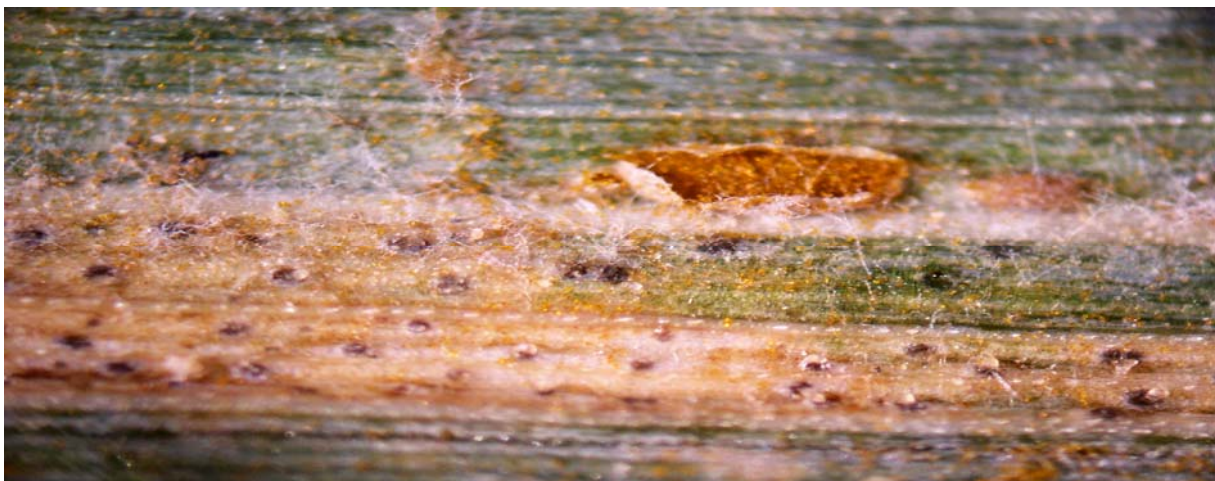
teplota, rychlost a směr větru, vzdušné proudy. Vzdušnými proudy se přenášejí spory patogenů na velké vzdálenosti, mezi kontinenty. Většina patogenů potřebuje k vyklíčení spory buď ovlhčení povrchu listu anebo alespoň vysokou vzdušnou vlhkost. Avšak konidie například padlí travního jsou schopné vyklíčit i na suchém povrchu a to díky dostatečné zásobě vody. Déšť je důležitý pro rozstříkávání pykno spor braničnatky pšeničné. Teplota má zásadní význam, protože každý patogen může mít pro svůj vývoj a rozmnožování odlišné teplotní rozmezí, které mu nejlépe vyhovuje. Například teploty vyšší než 25°C po několik dnů omezí nebo úplně zastaví vývoj padlí travního. Nižší teploty jsou například potřebné pro vývoj rzi plevové a braničnatky pšeničné. Naopak vyšší teploty jsou vhodné pro rez pšeničnou a zejména rez travní. Faktory počasí neovlivňují pouze patogena, ale i vzájemné interakce rostlina-patogen. Z dalších faktorů, které ovlivňují vznik a zejména vývoj choroby to mohou být způsob hospodaření na půdě, to je vliv hnojení, zejména dusíkem, pěstování plodiny v osevním sledu a podobně.

Nejvýznamnějším faktorem, který ovlivňuje vznik a vývoj chorob je člověk. Je to celá řada způsobů zavlékání chorob z jedné oblasti do jiné, přístup člověka ke vzniklé situaci a jeho schopnosti řešení vzniklé situace.

Obr. 1. Pyknidy braničnatky pšeničné v netypické skvrně, bez nekrotizovaného pletiva. Odrůda Vlasta, Hadačka u Kralovic, Plzeň. 2009.



Obr. 2. Rez pšeničná a braničnatka pšeničná. Odrůda Vanda, Želiezovce, Slovensko. 2005.



Obr. 3. Padlí travní. Odrůda Ulka, VÚRV. 2006.



#### **Literatura**

Kranz J., Rotem J. (1988): Experimental Techniques in Plant Disease Epidemiology. Springer-Verlag Heidelberg, 1 - 299.



# Zjišťování patogenity původce padlí jako nezbytná součást šlechtění ječmene na odolnost - Pathogenicity investigation in the powdery mildew population as an integral part of breeding barley for resistance

Doc. Ing. Antonín Dreiseitl, CSc.  
Agrotest fyto, s.r.o., Kroměříž  
e-mail: dreiseitl [antoni@vukrom.cz](mailto:antoni@vukrom.cz)

## Souhrn

Příspěvek je zaměřen na studium populace původce padlí ječmene a na návaznost tohoto studia na šlechtění a další výzkum v rámci daného hostitelско patogenního vztahu. Jsou zmíněny především nálezy pěti nových virulencí k dosud plně účinným odolnostem odrůd ječmene jarního Burštyn, Dubai, Laverda, Oowajao a Simba, dále nález dvou dosud vzácných virulencí k odolnostem odrůd Roxana a Spilka, jakož i nález vzácné avirulence Avh. Vybrané izoláty s uvedenými charakteristikami, společně s několika dalšími izoláty vyznačujícími se vhodnými kombinacemi virulencí, byly zařazeny do naší pracovní genové banky a nepochybně přispějí k dalšímu rozvoji studovaného patosystému, včetně efektivnějšího výběru šlechtitelských kmenů perspektivních z pohledu jejich odolnosti k danému patogenu.

**Klíčová slova:** ječmen; padlí ječmene; šlechtění na odolnost; populace *Blumeria graminis* f.sp. *hordei*; nové virulence

## Abstract

The contribution is focused on the study of the barley powdery mildew population and its continuation in breeding and further research into problems of the given host-pathogen relationship. Detection of five new virulences to date fully effective resistances of barley cvs. Burštyn, Dubai, Laverda, Oowajao and Simba, detection of two current rare virulences to the resistances of cvs. Roxana and Spilka as well as detection of rare avirulence Avh are reported. Selected isolates with the mentioned characteristics together with some other isolates with suitable virulence combinations have been included in our working genebank of the pathogen and are sure to contribute to further development of the investigated pathosystem, including more effective selection of breeding stocks perspective for their resistance.

**Keywords:** barley; powdery mildew; breeding for resistance; *Blumeria graminis* f.sp. *hordei*; new virulences

## Úvod

Padlí, vyvolávané vzduchem přenosnou fytopatogenní houbou *Blumeria graminis* f.sp. *hordei*, je nejčastější chorobou ječmene. Pěstování odolných odrůd je neúčinnější ochranou vůči chorobám, která je prostá jakýchkoli rizik pro zdraví konzumentů. V daném vztahu ječmen-padlí existuje velký počet známých (Jørgensen 1994) i dalších předpokládaných genů odolnosti (Dreiseitl & Bockelman 2003, Dreiseitl & Dinoor 2004), což umožňuje šlechtitelům rozvíjet program šlechtění na odolnost. Pokud má být toto úsilí úspěšné, musí mít přirozenou zpětnou vazbu, kterou jsou v daném případě informace o populaci daného patogenu.

Informace o populaci patogenu jsou získávány pomocí diferenciačních odrůd, tedy odrůd obsahujících geny specifické odolnosti. Z nich pak určitá část, a to ta, vůči jejichž odolnostem existují v dané patogenní populaci jak virulence tak i avirulence, je schopna zachytit rozdíly mezi izoláty a danou populací skutečně diferencuje. V případě daného patosystému mnoho známých genů odolnosti vytváří tlak na zvyšování počtu diferenciačních odrůd. Proto jsme ke studiu populace r. 2008, zaměřené především na zjišťování frekvence virulencí ke genům

odolnosti obsaženým v odrůdách ječmene ozimého (Dreiseitl 2008), použili jako doplňkovou mj. i nově registrovanou (2008) odrůdu ječmene jarního Kangoo (Dreiseitl nepublikováno). Ta obsahovala neznámou odolnost, účinnou vůči všem izolátům naší pracovní genové banky patogenu. Tento příspěvek je zaměřen především na malý, ale z hlediska šlechtění ječmene významný segment populační studie r. 2009, a to na nález nových virulencí.

## **Materiál a metody**

Vzorek populace patogenu byl získán na přelomu května a června 2009, tedy v období s předpokládaným vyváženým poměrem konidií vyprodukovaných odrůdami jarního i ozimého ječmene, a to odchytem konidií v přízemní vrstvě vzduchu (ve výšce cca 2 m) pomocí specializovaného fytopatologického přístroje (Schwarzbach 1979) umístěného na střeše osobního automobilu, který byl řízen po trase vedoucí pěstitelskými oblastmi ječmene v ČR o celkové délce cca 2 tis. km. Trasa odchyty, která je několik posledních let identická, byla rozdělena na 14 úseků, z nichž šest reprezentuje pěstitelské oblasti Moravy a šest Čechy. Následně seskupené dvojice či trojice úseků umožňují analýzu mnoha subpopulací vybraných podoblastí. Dva zbylé úseky byly spojovací a na nich odchycené vzorky nebyly využity.

Izoláty byly prostudovány pomocí třech diferenciačních souborů, které obsahovaly celkem 60 odrůd. První soubor zahrnoval 15 odrůd s dříve využívanými geny odolnosti, které umožňují porovnání parametrů populace v dlouhé časové řadě. Pomocí tohoto diferenciačním souboru bylo prostudováno 25 izolátů z každého úseku, tedy celkem 300 izolátů. Druhý soubor obsahoval 20 odrůd s geny odolnosti přítomnými v současných pěstovaných odrůdách ječmene. Třetí soubor obsahoval 25 odrůd s odolnostmi, vůči kterým jsme dosud v naší genové bance patogenu neměli odpovídající virulence a jejichž odolnost jsme tedy označovali jako plně účinnou (avšak odlišnou od odolnosti Mlo). Z uvedených 300 izolátů bylo pomocí druhého a třetího souboru prostudováno 12 izolátů z každého úseku, tedy celkem 144 izolátů. K vyhodnocení virulence izolátů k odolnostem obsažených v 60 odrůdách uvedených třech diferenciačních souborů byla použita devítibodová stupnice 0-4 včetně mezitypů (TORP *et al.* 1978). Další metodické detaily lze nalézt v práci Dreiseitla 2008.

## **Výsledky**

Průměrná frekvence patotypů zjištěných pomocí prvního diferenciačního souboru s 12 diferencujícími odrůdami byla 2,1 izolátů a průměrná frekvence patotypů zjištěných pomocí dalších dvou diferenciačních souborů s celkovým počtem 20 diferencujících odrůd byla 1,3 izolátů. Byly zjištěny nové virulence k pěti dosud plně účinným odolnostem obsaženým v odrůdách ječmene jarního Burštin, Dubai, Laverda, Lilly a Oowajao, a to s frekvencí 0,7 až 4,9%. Byly také zjištěny dvě dosud vzácné virulence k odolnostem odrůd Roxana a Spilka (0,7 až 1,7%) a vzácná avirulence *Avh* (0,7%). Dále bylo nalezeno několik patotypů s kombinacemi virulencí, které jsou vhodné k dalšímu rozvoji studia daného patosystému.

## **Diskuse**

Každoročním počtem mnoha set prostudovaných vzorků jsme v současnosti nepochybně jedním z nejvýkonnějších světových pracovišť využívajících metodu postulance genů odolnosti k chorobám rostlin. Abychom mohli úspěšně plnit daný segment našeho výzkumu, potřebujeme mít k dispozici širokou variabilitu jak hostitele, tak i patogenu.

Naši pracovní genovou banku hostitele (ječmen) tvoří více než 400 referenčních odrůd s geny odolnosti k původci padlí ječmene. Část této genové banky je tvořena odrůdami, které prošly našimi testy odolnosti, avšak u kterých se nám nepodařilo identifikovat jejich odolnost, nebo se nám jejich odolnost jeví jako nová, dosud neznámá.

Genová banka patogenu obsahuje cca 50 referenčních izolátů. Je tvořena stabilnější kolekcí cca 20 izolátů vybraných z vlastních studií jednotlivých metapopulací všech kontinentů a

izolátů získaných z jiných evropských laboratoří. Cca 30 izolátů, jejichž obměna v genové bance patogenu je rychlejší, reprezentuje výběr ze systematického studia domácí populace.

Jak již bylo zmíněno v úvodu, v r. 2008 jsme použili pro studium domácí populace jako diferenciacní i novou odrůdu ječmene jarního Kangoo, která byla jedním z reprezentantů odrůd s plně účinnou a pro nás neznámou odolností. S překvapením jsme našli hned osm virulentních izolátů, z nichž jsme dva zařadili do genové banky patogenu. Ty jsme, společně s dalšími, použili k testům odolnosti všech odrůd s plně účinnou a dosud neznámou odolností obsažených v naší genové bance hostitele. Zjistili jsme, že daná odolnost obsažená v odrůdě Kangoo byla přítomna celkem v 18 odrůdách. Analýzou pedigree jsme zjistili zdroj této odolnosti a navrhli evropský kód (Boesen *et al.* 1996) k jejímu označení (Dreiseitl submitted).

Na základě popsané zkušenosti z r. 2008 jsme v letošním roce vytvořili samostatný diferenciacní soubor C, tvořený 25 odrůdami naší genové banky hostitele, které se vyznačovaly plně účinnou a dosud neznámou odolností. Nalezli jsme izoláty překonávající odolnost devíti z nich. Na základě další analýzy jsme zjistili, že se jedná o izoláty s pěti novými virulencemi. Tyto izoláty nám umožňují provést obdobné studie, jako v případě nálezu virulence k odolnosti odrůdy Kangoo.

Z výsledků zaměřených na detekci nových virulencí vyplývá, že šlechtitelé (domácí i zahraniční) stále využívají monogenně založené specifické odolnosti, a to mnohdy i ty, široce využívané i v jiných šlechtitelských programech. Výskyt nové virulence pak vyvolává zhroucení odolnosti celé řady pěstovaných odrůd. Jedná se tedy o stále stejnou chybu, kdy je ve šlechtění ječmene využívána relativně úzká variabilita hostitelských odolností a tyto odolnosti nejsou včas kombinovány ('pyramided') k dosažení dostatečné trvanlivosti odrůdové odolnosti

### **Acknowledgement**

Příspěvek byl zpracován v rámci projektu MŠMT č. 2532885901.

### **Literatura**

- Boesen B., Hovmøller M.S., Jørgensen J.H. (1996): Designations of barley and wheat powdery mildew resistance and virulence in Europe. In: Limpert E., Finckh M.R., Wolfe M.S. (eds.): Integrated Control of Cereal Mildews and Rusts: Towards Coordination of Research Across Europe, 2-9, European Commission, Brussels, Luxembourg.
- Dreiseitl A. (2008): Virulence frequency to powdery mildew resistances in winter barley cultivars. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 44, 160-166.
- Dreiseitl A.: Resistance 'Roxana' to powdery mildew and its presence in some spring barley cultivars. *Plant Breeding*, submitted.
- Dreiseitl A., Bockelman H.E. (2003): Sources of powdery mildew resistance in a wild barley collection. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 50, 345-350.
- Dreiseitl A., Dinooor A. (2004): Phenotypic diversity of barley powdery mildew resistance sources. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51, 251-258.
- Jørgensen J.H. (1994): Genetics of powdery mildew resistance in barley. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 13, 97-119.
- Schwarzbach E. (1979): A high throughput jet trap for collecting mildew spores on living leaves. *Phytopathologische Zeitschrift*, 94, 165-171.
- Torp J., Jensen H.P., Jørgensen J.H. (1978): Powdery mildew resistance genes in 106 Northwest European spring barley cultivars. *Royal Veterinary and Agricultural University Yearbook 1978*, 75-102, Copenhagen.

## **Tilletia spp. a Fusarium spp. na ozimé pšenici - Tilletia spp. a Fusarium spp. on winter wheat**

Doc. Ing, Evžen Prokinová, CSc.<sup>1</sup>, Ing. Lenka Štočková<sup>1</sup>, Mgr. Světlana Sýkorová, CSc.<sup>2</sup>, Ing. Marie Váňová, CSc.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Česká zemědělská univerzita, Praha - Suchbát

<sup>2</sup>Výzkumný Ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha - Ruzyně

<sup>3</sup>Agrotest fyto, s.r.o., Kroměříž

e-mail: [prokinova@af.czu.cz](mailto:prokinova@af.czu.cz)

### **Souhrn**

V letech 2007 a 2008 byl hodnocen obsah DON, ZEA a T-2 toxinů v zrnech ozimé pšenice. Obsah toxinů byl porovnáván s procentem napadení klasů *Tilletia caries*. Výsledky ukazují, že napadení sněti může být jedním z faktorů, které zvyšují citlivost ozimé pšenice k napadení klasů *Fusarium* spp. a kumulaci mykotoxinů v zrnu.

**Klíčová slova:** *Tilletia*; *Fusarium*; DON; ZEA; T-2; pšenice ozimá

### **Abstract**

Content of DON, ZEA and T-2 toxins in grain of winter wheat was evaluated in 2007 and 2008 years. The content of mycotoxins was compared to percent of *Tilletia caries* infected spikes. Obtained results showed, that bunt infection could be one of the factors stimulating infection of spikes with *Fusarium* spp. and cumulation of mycotoxins in braun.

**Key words:** *Tilletia*; *Fusarium*;, DON; ZEA; T-2; winter wheat

### **Úvod**

Sněti rodu *Tilletia* patří k trvalým souputníkům pšenice, vyskytují se každoročně, i když u nás v posledních pěti letech, především díky poměrně vysoké obměně osiva a vysokému podílu osiva mořeného, většinou v přijatelné míře. Negativní dopad na výši výnosu mají sněti jen v některých letech, ale i slabší napadení znamená zhoršení kvality sklizené partie díky produkci silně páchnoucí látky trimethylamin. Tyto houby samy o sobě nejsou producenty toxinů, z hlediska vlivu na zdraví člověka patří spory rodu *Tilletia* mezi alergeny (Grammer, Greenberger 2009).

Mezi druhy rodu *Fusarium*, které napadají klasy obilnin, je řada producentů velmi stabilních toxinů. Proto je výzkumu těchto patogenů a jejich interakcím s rostlinou celosvětově věnována značná pozornost. Jednou z oblastí výzkumu je objasňování podmínek, za kterých dochází k napadení klasu a k produkci toxinů. Houby rodu *Fusarium* jsou typické fakultativní patogeny a je známo, že preferují stresované rostliny (Papendick et al. 1974, Xiangming et al., 2007). Mezi dobře známé stresové faktory patří např. špatná výživa dusíkem (Teich, Nelson 1984). Jako stresový faktor však může působit i napadení rostliny jiným patogenem. V naší práci jsme se zaměřily na ověření hypotézy, že napadení *Tilletia* spp. může ovlivnit napadení *Fusarium* spp. a následně míru obsahu mykotoxinů v zrnu ozimé pšenice.

## Materiál a metody

V Agrotest fyto, s. r. o. v Kroměříži byly v letech 2006 – 2008 založeny polní maloparcelkové pokusy s umělou inokulací *Tilletia caries*. Bylo vyseto 26 odrůd ozimé pšenice, inokulace byla provedena sporami *Tilletia caries* v dávce 2 g na 1 kg osiva. Napadení klasů *Fusarium* spp. v letech 2007 a 2008, za které uvádíme výsledky, pocházelo z přirozené infekce. Bylo zjištěno procento klasů napadených *T. caries*. Protože cílem bylo nejprve ověřit opodstatněnost hypotézy a zjistit obsah fuzariových toxinů ve vztahu k napadení snětí, hodnocení napadení klasů *Fusarium* spp. nebylo prováděno. Vzorky sklizeného zrna byly předány VÚRV k dalšímu zpracování – ke zjištění obsahu DON, ZEA a T-2 toxinů. Stanovení probíhala podle protokolu daného výrobcem komerčních imunochemických ELISA kitů. Kvantitativní vyhodnocení bylo provedeno spektrofotometricky na základě kalibrace pomocí standardů, výtěžnost metody pro DON a ZEA byla vypočtena pomocí certifikovaného referenčního materiálu, pro T-2 toxin pomocí matrice spikované čistým standardem (referenční materiál není k dispozici).

V roce 2007 bylo analyzováno celkem 26 vzorků, v roce 2008 36 vzorků různých odrůd pšenice. Ve vzorcích byl stanoven procentický hmotnostní podíl snětivých zrn, vzorky byly umlety na laboratorním mlýnku IKA A 11 a analyzovány jako směsi snětivých a zdravých zrn příslušné odrůdy. Pro stanovení obsahu deoxynivalenolu (DON) byly použity imunochemické kity Ridascreen Fast DON, pro stanovení zearalenonu kity Ridascreen Fast Zearalenon a pro stanovení T-2 toxinu Ridascreen Fast T-2 toxin (R-Biopharm, SRN). Postup stanovení probíhal podle protokolu předepsaného producentem kitů. Pro stanovení DON je vzorek extrahován dvacetinásobným objemem destilované vody a filtrát přímo použit pro stanovení. Pro stanovení ZEA a T-2 toxinu se extrakce vzorku provádí pětinašobným objemem 70% methylalkoholu a před nanášením na titrační destičku se vzorky ředí 1 : 1 destilovanou vodou (výsledná koncentrace methylalkoholu ve vzorku připraveném na stanovení je tedy 35%). Tuto koncentraci je třeba dodržet i při dalším případném ředění vzorku, pokud by obsah ZEA, příp. T-2 toxinu převýšil hodnotu 400 ppb – to znamená ředit nikoli destilovanou vodou, ale 35% methylalkoholem. Výtěžnost jednotlivých toxinů pro uvedené metody stanovení byly vypočteny pomocí analýz referenčních materiálů pro DON a zearalenon a pomocí spiku pšeničného šrotu pro T-2 toxin. Hodnoty LOQ pro DON 0,2 mg.kg<sup>-1</sup>, pro ZEA i pro T-2 LOQ činí 50 µg.kg<sup>-1</sup>. Všechny hodnoty byly korigovány na výtěžnosti zjištěné pomocí referenčních materiálů a spiku. Pro DON činí výtěžnost 99,6 %, pro ZEA 63,5% a pro T-2 toxin 102%.

## Výsledky, diskuse

V roce 2007 měla z testovaných odrůd nejnižší procentický podíl snětivých zrn odrůda Karolinum (0%), nejvyšší pak odrůda Drifter (45,82%). Mezi těmito mezemi se nacházely hodnoty ostatních 24 odrůd. U odrůdy Drifter byl rovněž zjištěn nejvyšší obsah DON (0,893 mg.kg<sup>-1</sup>), minimální obsah byl zjištěn u odrůdy Barroko (0,02 mg.kg<sup>-1</sup> – v tomto případě se jedná o hodnotu pod limitem kvantifikace (LOQ), pouze dopočtenou softwarem pro vyhodnocování ELISA analýz). Situaci ilustruje graf 1. Hodnoty obsahů ZEA u všech odrůd byly pod hodnotou LOQ a byly pouze dopočteny pomocí softwaru, aby bylo možné určité porovnání odrůd, s výjimkou odrůdy Ilias, jejíž obsah ZEA činil 257,29 µg.kg<sup>-1</sup>, pro T-2 toxin byla maximální hodnota 334,46 µg.kg<sup>-1</sup> zjištěna u odrůdy Drifter, u pěti odrůd byl jeho obsah pod LOQ, u ostatních dvaceti se pohyboval od 60,75 po uvedené 334,46 µg.kg<sup>-1</sup>. Různou míru citlivosti vůči kumulaci mykotoxinů u jednotlivých odrůd ozimé pšenice v českém sortimentu dokumentovali i Chrpvá a kol. (2007). Graf 1 ilustruje vztah procentického obsahu snětivých zrn a sumy obsahu fuzariových toxinů (se zahrnutím i dopočtených hodnot nižších než LOQ). Korelační koeficient vztahu suma mykotoxinů – procento napadení *T. caries* byl 0,4950.

V roce 2008 se ve všech analyzovaných vzorcích nacházel obsah DON pod hladinou LOQ, obsah ZEA byl ve čtyřech vzorcích nad hodnotou LOQ, obsah T-2 toxinu byl nad hladinou LOQ ve dvou analyzovaných vzorcích. Rozdíl v obsahu mykotoxinů v jednotlivých letech je dán především průběhem počasí v době kvetení a počátku tvorby klasu. Význam srážek v tomto období dokumentovala řada autorů, např. Meier et al. (2000). Z výsledků je patrné, že je třeba věnovat pozornost ZEA a T-2 toxinům. V rámci celého souboru vzorků nebyla zjištěna významná korelace mezi obsahem mykotoxinů a procentem snětivých klasů (korelační koeficient 0,249987) – graf 2. Významná pozitivní korelace mezi procentem snětivých klasů a obsahem fuzariových toxinů však byla zjištěna u souboru odrůd, které byly snětí napadeny z 15 a více procent (korelační koeficient 0,643099) - tab. 1. Korelační koeficient pro vztah suma mykotoxinů – procento snětivých klasů vypočítaný pro oba sledované roky je 0,617608.

### **Závěr**

Výsledky analýz fuzariových mykotoxinů a jejich porovnání s mírou napadení klasů *Tilletia caries* nebyly v uvedených dvou letech úplně jednoznačné, především v r. 2007 byl více patrný i vliv odrůdy. Z porovnání výsledků let 2007 a 2008 a výsledků autorů Chrpová a kol. (2007) z let 2004 - 2006 vyplývá, že i vliv odrůdy patří k méně významným dispozičním faktorům pro napadení klasů *Fusarium* spp. a kumulaci mykotoxinů. Dominantní vliv má průběh počasí, hlavně vzdušné vlhkosti v době kvetení, resp. v době infekce (Lacey et al.). Přesto je zřejmé, že existuje i vazba mezi napadením klasů snětí a obsahem fuzariových toxinů ve sklizeném zrně. Tato vazba je jednoznačná při napadení 15 a více procent klasů *T. caries*. Domníváme se, že napadení klasů mazlavou snětí je možno označit za jeden ze stresových faktorů, které disponují rostlinu k napadení klasovými fuzariemi. Proto budou experimenty pokračovat i v příštích letech s tím, že již v letošním roce bude pozměněna metodika pokusů i jejich vyhodnocení tak, aby výsledky přesněji a podrobněji postihly naznačenou interakci.

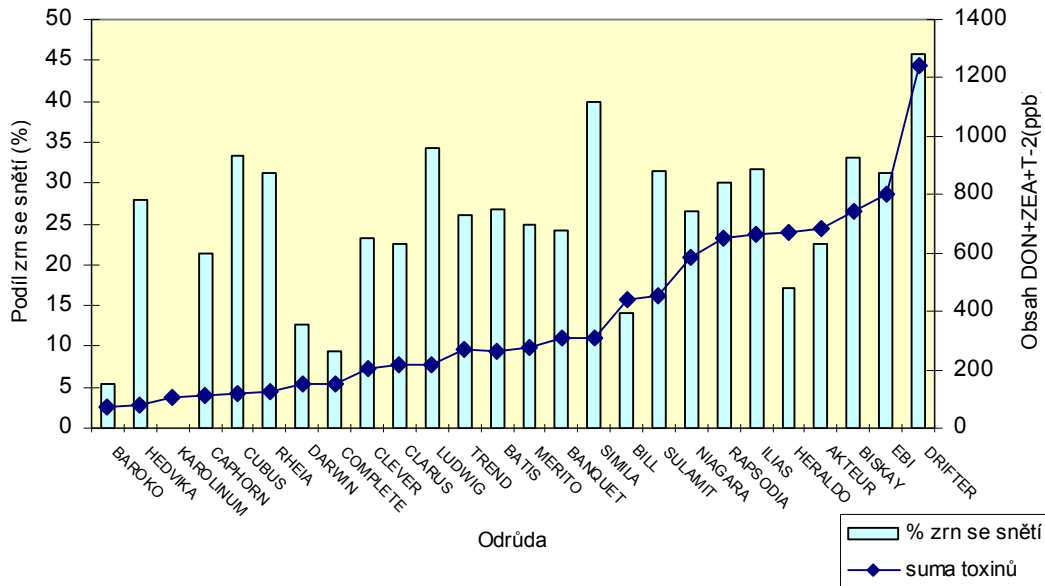
### **Acknowledgement**

Práce byla realizována díky podpoře NAZV – projekt QH 71105

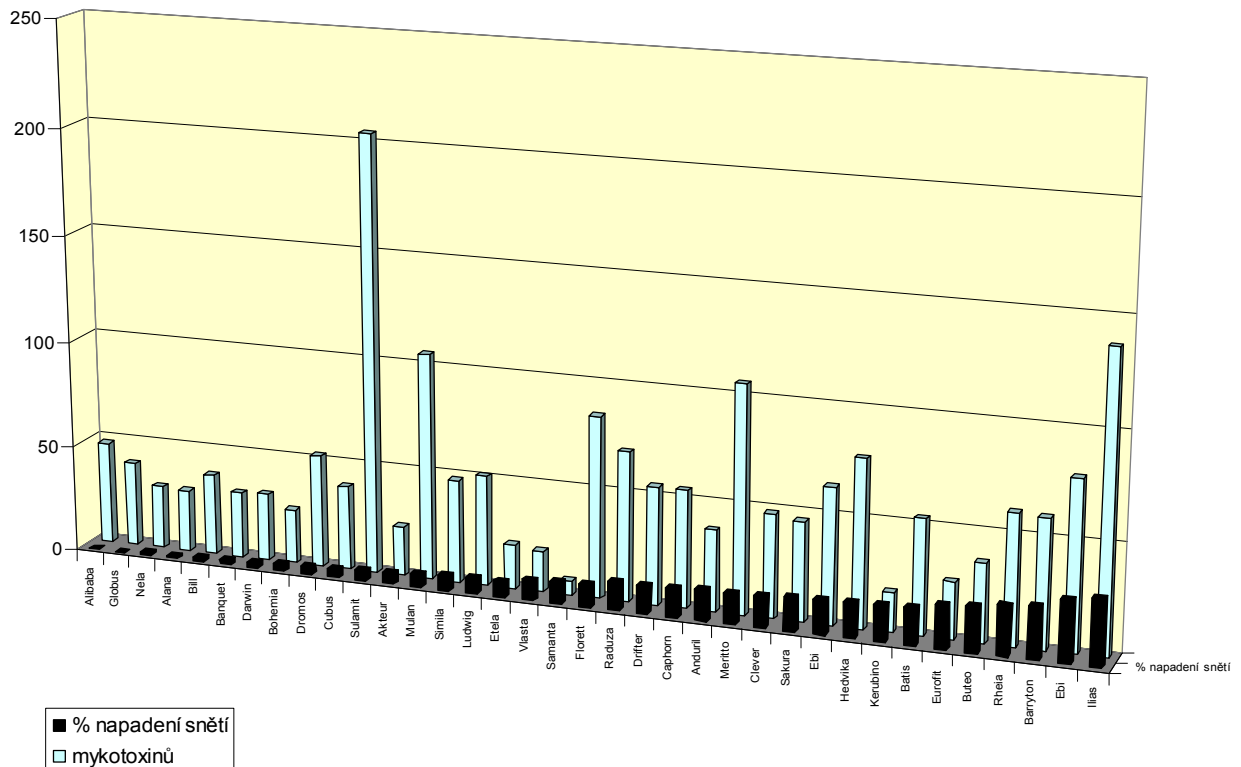
### **Literatura:**

- Grammer L., Greenberger P.A.: Patterson's Allergic Diseases. 7th Edition. Lippincott Williams & Wilkins, 2009, 736 pp.
- Chrpová J., Šíp V., Matějová E., Sýkorová S.: resistance of Winter Wheat Varieties Registered in the Czech Republic to Mycotoxin Accumulation in braun Following Inoculation with *Fusarium culmorum*. Czech J. Genet. Plant Breed., 43, 2007 (2):44-52.
- Lacey J., Bateman B.L., Mirocha A.J.: Effects of infection time and moisture on development of ear blight and deoxynivalenol production by *Fusarium* spp. in wheat. Ann. Appl. Biology, vol. 134 (3), 2001: 277-283.
- Meier A., Birzele B., Oerke E.C. and Dehne H.W.: Impact of growth conditions on the occurrence of *Fusarium* spp. and the mycotoxin content of wheat. Mycotoxin Research, vol. 16., suppl. 1, 2000:12-15.
- Xiangming X., Nicholson P., Ritieni A.: Effects of fungal interactions among *Fusarium* head blight pathogens on disease development and mycotoxin accumulation. Inter. J. Food Microbiol., 2007, vol. 119 (1-2): 67-71.

**Graf 1 Pšenice 2007 - podíl zrn se snětí a suma fuzáriových toxinů**



**Graf 2 Procento klasů napadených snětí a obsah mykotoxinů (ppm)**



**tab. 1** 2008 klasů napadených snětí méně než 15 %

odrůda	% napadení snětí	suma (ppm) mykotoxinů	v
Alibaba	0,00	47,66	
Globus	0,00	39,38	
Nela	1,20	29,67	
Alana	1,20	28,8	
Bill	1,90	37,87	
Banquet	2,20	30,82	
Darwin	2,40	31,57	
Bohemia	3,60	25,25	
Dromos	3,70	52,68	
Cubus	3,90	39,38	
Akteur	5,00	22,98	
<b>Mulan</b>	6,40	<b>105,52</b>	
Simila	6,90	47,91	
Ludwig	7,30	51,41	
Etela	7,50	20,58	
Vlasta	9,70	18,91	
<b>Samanta</b>	10,20	<b>6,54</b>	
Florett	10,5	84,67	
Raduza	13,2	69,75	
Drifter	13,4	55,04	
Caphorn	13,8	54,84	
Anduril	14,4	37,95	
Meritto	14,5	106,2	
Clever	14,8	48,24	

	% napadení snětí	mykotoxinů
% napadení snětí	1	
mykotoxinů	<b>0,368080786</b>	1

klasů napadených snětí více než 15 %

odrůda	% napadení snětí	suma (ppm) mykotoxinů	v
Sakura	15,9	46,3	
Ebi	16,4	63,48	
Hedvika	16,8	77,95	
Batis	17,3	53,55	
Eurofit	20,1	26,61	
Buteo	21,1	36,52	
Rheia	23,1	60,58	
Barryton	24,4	59,92	
Ebi	28,8	78,78	
Ilias	31,2	137,55	

	% napadení snětí	mykotoxinů
% napadení snětí	1	
mykotoxinů	<b>0,643099082</b>	1



## **Laboratórna metóda identifikácie genetických zdrojov rezistencie voči múčnatke trávovej na pšenici - Laboratory method identification of resistance genetic sources to powdery mildew on wheat**

RNDr, Švec Miroslav, CSc.<sup>1</sup>, RNDr. Mikulová Katarína, PhD.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katedra genetiky, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

<sup>2</sup> Katedra fyziológie rastlín, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

<sup>1</sup>e-mail: [msvec@fns.uniba.sk](mailto:msvec@fns.uniba.sk)

### **Abstrakt**

Hlavným cieľom našich experimentov bol skrínig genetických zdrojov tetraploidnej pšenice dvojrzbovej na nešpecifickú rezistenciu. Potvrdili sme, že na základe laboratórných metód je možné identifikovať potenciálne genetické zdroje rezistencie voči múčnatke trávovej na pšenici. Spomedzi 54 analyzovaných vzoriek pšenice dvojrzbovej bolo až 21 genotypov, ktoré znižovali infekčnú účinnosť patogéna na terciarnom liste vo väčšej miere ako kontrolná rezistentná odroda Amigo. Najvyššiu úroveň nešpecifickej rezistencie vykazovali vzorky TRI 5329, TRI 2883, TRI 18201, TRI 11293, FAR 10, FAR 32, FAR 59, CGN 8351, CGN 8104 a CGN 10426. Laboratórne metódy detekcie nešpecifickej rezistencie je možné využiť na identifikáciu rezistentných genotypov v skorých generáciách selekčného procesu, ako aj na identifikáciu potenciálnych genetických zdrojov rezistencie v kolekciách vzoriek pšenice v génových bankách.

**Kľúčová slova:** genetické zdroje; tetraploidna pšenica; múčnatka trávová; nešpecifická rezistencia

### **Abstract**

Screening for non-specific resistance in genetic resources of tetraploid emmer was the main scope of our experiments. We proved, that it is possible to identify potential genetic resources of resistance against wheat powdery mildew by means of laboratory methods. Among fifty four analysed emmer accessions, we found twenty one genotypes which decreased infection efficiency of pathogen on the tertiary leaves in higher rate than resistant check Amigo variety. The highest level of non-specific resistance showed the accessions as follows: TRI 5329, TRI 2883, TRI 18201, TRI 11293, FAR 10, FAR 32, FAR 59, CGN 8351, CGN 8104 and CGN 10426. Therefore, the laboratory method of detection of a non-specific resistance is possible to use for identification of resistant genotypes in the early cycles of the selection process. Equally, this laboratory method will be suitable for the identification of genetic resources of resistance in wheat collections of the Gene banks.

**Key words:** genetic sources; tetraploid emmer; powdery mildew; non-specific resistance

### **Úvod**

V šľachtiteľskej praxi sa pozornosť šľachtiteľov v selekcii na rezistenciu voči hubovým chorobám dosiaľ sústreďovala na využívanie genetických zdrojov špecifickej rezistencie. Mnohé gény špecifickej rezistencie boli identifikované nielen na fenotypovej, ale aj na chromozómovej a molekulárnej úrovni. Nešpecifická rezistencia (non-specific resistance NSR) je zanedbávaná tak v experimentoch, ako aj v praxi. Pravdepodobnou príčinou tohto stavu je kvantitatívny charakter tejto rezistencie, nie alternatívna, ale kontinuálna premenlivosť takéhoto typu rezistencie. Veľký počet a nejednoznačnosť fenotypových

kategórií a z toho vyplývajúca absencia diferenciačnej reakcie hostiteľ - patogén v štiepiacich populáciách sú tým faktorom, ktorý odrádza experimentátorov a šľachtiteľov od analýzy a aplikácie nešpecifickej rezistencie. Zatiaľ čo gény špecifickej rezistencie sa po určitom období používania v praxi stávajú neefektívne v dôsledku adaptácie populácií patogéna, nešpecifická rezistencia býva trvalá, čo je jej najväčšou výhodou.

Nešpecifickú rezistenciu je možné hodnotiť v poľných aj laboratórnych podmienkach. V prírodných podmienkach je ukazovateľom rezistencie priebeh epidémie patogéna na konkrétnom genotype hostiteľa. K epidemiologickým parametrom patria napr. incidencia ochorenia (Parlevliet, 1979), čo je vlastne percento infikovaných rastlín zo všetkých hodnotených rastlín, alebo stupeň napadnutia (disease severity – DS), ktorý predstavuje percento infikovanej plochy rastlinného pletiva z celkovej hodnotenej plochy (Miedaner et al. (1993). K veľmi často používaným parametrom patrí aj parameter AUDTC (area under the transformed disease severity curve), kde výsledný epidemiologický parameter vyjadruje časový priebeh vývoja ochorenia v poraste (Broers, 1989). Variantou tohto parametra s netransformovanými hodnotami DS je parameter AUDPC (area under the disease progress curve)(Miedaner et Sperling, 1995; Broers et al., 1996). K základným zložkám NSR prejavujúcim sa na fenotypovej úrovni sú znížená infekčná frekvencia – predstavuje percentuálny podiel konídií, ktorých vývin prebehne až po následnú sporuláciu z celkového množstva inokulovaných konídií, predĺžená latentná perióda – je čas , ktorý uplynie od infikovania rastlinného pletiva po produkciu konídií a nižší infekčný potenciál kolónií, ktorý sa prejaví menším počtom spór jednej kolónie za jednotku času, alebo plochy pletiva (Shaner, 1973).

V laboratórnych podmienkach sa nešpecifická rezistencia identifikuje pomocou cytologických , alebo molekulárnych markérov. Cytologické markéry (t.j. vývojové štruktúry patogéna ako napr. apresória, haustória, sekundárne hýfy, ktoré identifikujeme na listových segmentoch hostiteľa v cytologických preparátoch) zväčša poukazujú na oneskorenie nástupu jednotlivých ontogenetických štádií patogéna, ktoré je dôsledkom prejavu obranných mechanizmov hostiteľa podmienených génmi nešpecifickej rezistencie. Andersen a Thorp (1986) použili počet lalokov na vytvorenom apresóriu ako marker rezistencie jačmeňa voči múčnatke. Nešpecifickú rezistenciu prejavujúcu sa v adultívnom štádiu rastlín pšenice sledoval Hyde (1976) pomocou pomeru ESH/apresória a počtu reťazcov konídií v kolóniách (ESH – elongated secondary hyphae). K cytologickým markérom rezistencie môžeme zaradiť aj obranné mechanizmy rastlinného pletiva ako napr. tvorba papíl a halo efektov, ktorých efektívnosť sa takisto prejavuje v oneskorení ontogenézy patogéna a zníženým počtom sporulujúcich kolónií (Kmecl et al., 1995).

Molekulárnymi markérmí nešpecifickej rezistencie sú zväčša markéry tzv. QTL lokusov (quantitative trait loci), v ktorých sa nachádzajú gény nešpecifickej rezistencie. V súčasnosti je u pšenice letnej známych minimálne 20 QTL lokusov, ktoré sa podieľajú na nešpecifickej rezistencii voči múčnatke trávovej na pšenici. Tieto tzv. QPm lokusy boli identifikované na chromozómoch 1A, 1B, 1D, 2A, 2B, 2D, 3A, 3D, 4A, 4B, 4D, 5A, 5B, 6D, 7B a 7D (web 1). Ako prevratný objav v molekulárnej genetike rezistencie pšenice môžeme hodnotiť osekvenovanie génu rezistencie *Lr34*(Krattinger et al.,2009) . Tento major gén patrí medzi R-gény a je účinný voči hrdzi pšenicevej (*Puccinia tritricina* Eriks.), hrdzi plevovej (*Puccinia striiformis* Westend f.sp.*tritici*) a súčasne aj voči múčnatke trávovej na pšenici (*Blumeria graminis* DC f.sp.*tritici* Speer) v neskorých ontogenetických štádiách pšenice letnej. Zvláštnosťou je, že hoci tento gén patrí k R-génom, ktoré sú dosiaľ považované za gény špecifickej rezistencie, na molekulárnej úrovni je tento gén úplne odlišný od ostatných R-génov. Jeho efektívnosť závisí od regulačných mechanizmov a exprimuje sa vo väčšej miere až v zástavcovom liste. Prejavuje sa teda kvantitatívne a až v adultívnom štádiu pšenice, a preto

ho môžeme zaradiť ku génom nešpecifickej rezistencie (špecifita je vylúčená nielen na úrovni genotyp hostiteľa – rasa patogéna, ale aj na úrovni hostiteľ – druh patogéna).

Vzhľadom k dočasnému charakteru špecifickej rezistencie a nízkej pravdepodobnosti objavenia sa nových potenciálnych zdrojov tohto typu rezistencie v rámci genetických zdrojov, ako perspektívny spôsob boja proti hubovým patogénom pšenice letnej sa javí vyhľadávanie účinných zdrojov nešpecifickej rezistencie voči patogénom nielen v rámci druhu *Triticum aestivum* L., ale aj medzi blízkymi príbuznými a predchodcami tohto druhu. Cieľom našej práce bolo identifikovať nešpecifickú rezistenciu voči múčnatke trávovej na pšenici u 54 vzoriek tetraploidnej pšenice dvojrzbovej (*Triticum turgidum* subsp. *dicoccum* Thell).

### **Materiál a metódy**

Päťdesiatštyri genotypov tetraploidnej pšenice sme získali z európskych génových bánk. Vzorky označené skratkou CGN boli získané z holandskej génovej banky vo Wageningene, vzorky označené TRI boli poskytnuté z génovej banky v Gaterslebene, s označením FAR zo S. Angelo Lodigiano v Taliansku, BGE z génovej banky v Madride, BVAL z génovej banky v Linzi, Td z Inštitútu šľachtenia rastlín vo švajčiarskom Reckenholzi a zostatok vzoriek z génovej banky v Piešťanoch. Súhrnne vzorky pochádzali z 19 krajín sveta.

Na stanovenie nešpecifickej rezistencie v testovaných genotypoch hostiteľa sme použili metódu hodnotenia apsesórií a sekundárnych hýf, ktorú popísali Hyde et Colhoun (1975). Vychádzali sme z predpokladu, že znížený pomer počtu sekundárnych hýf a apsesórií na segmentoch hostiteľa (infekčná účinnosť – IE) je prejavom génov nešpecifickej rezistencie. Ďalším predpokladom bolo, že znížená infekčná účinnosť patogéna na listových segmentoch vyššieho ontogenetického štádia hostiteľa v porovnaní s infekčnou účinnosťou na nižšom ontogenetickom štádiu hostiteľa je dôsledkom expresie väčšieho počtu génov nešpecifickej rezistencie, alebo dôsledkom zvýšenej expresie toho istého génu (génov) nešpecifickej rezistencie. Z toho dôvodu sme infekčnú účinnosť patogéna vyhodnocovali na primárnych a terciárnych listoch všetkých 54 vzoriek tetraploidných pšeníc. Ako kontroly sme použili náchylnú hexaploidnú odrodu Ai-bian1 a rezistentnú odrodu Amigo. Jeden a pol cm dlhé segmenty pšenice v štádiu primárneho a terciárneho listu sme 48 hodín po inokulácii zmesou izolátov s komplexnou virulenciou voči známym génom špecifickej rezistencie fixovali v Carnoyovej fixácii, následne farbili trypanovou modrou a zarámovali v Entellane. U každého genotypu pšenice sme na primárnom aj terciárnom liste hodnotili 250 infekčných jednotiek (v štádiu apsesória - App, alebo sekundárnej hýfy – ESH).

### **Výsledky**

Hodnoty infekčnej účinnosti (infection efficiency) na primárnom liste (IE1), na terciárnom liste (IE3), a redukcia infekčnej účinnosti na terciárnom liste v porovnaní s primárnym listom ( $IE3/IE1 \times 100$ ) sú uvedené v tabuľke č.1.

Tabuľka č.1: Hodnoty infekčnej účinnosti 54 vzoriek tetraploidných pšeníc a dvoch kontrolných hexaploidných kultivarov na primárnom (IE1) a terciárnom liste (IE3) liste.

<i>Vzorka</i>	<i>ESH/App x 100 prim.list</i>	<i>ESH/App x 100 terciárny list</i>	<i>Redukcia IE3/IE1 x 100</i>	<i>Vzorka</i>	<i>ESH/App x 100 prim.list</i>	<i>ESH/App x 100 terciárny list</i>	<i>Redukcia IE3/IE1 x 100</i>
<i>TRI 17023</i>	31.20	17.66	56.6	<i>TRI 445</i>	18.63	10.28	55.2
<i>RCAT004661</i>	32.56	18.71	57.5	<i>CZEBES9963</i>	36.15	24.03	66.5
<i>TRIA5100</i>	16.53	11.91	72.1	<i>CGN 10426</i>	21.40	7.21	33.7
<i>TRI 18219</i>	25.11	15.62	62.2	<i>TRI 3432</i>	30.05	19.11	63.6
<i>TRI 7975</i>	24.11	14.33	59.4	<i>CGN 12278</i>	46.0	34,02	74.0
<i>TRI 6158</i>	68.92	46.30	67.2	<i>TRI 9754</i>	54.74	38.81	70.9
<i>BVAL-21210</i>	39.87	29.11	73.0	<i>BVAL-21211</i>	35.88	32.56	90.7
<i>BVAL-21212</i>	46.31	35.00	75.6	<i>CGN 11486</i>	40.28	28.45	70.6
<i>TRI 5329</i>	8.36	3.17	37.9	<i>Td4461</i>	34.17	25.66	75.1
<i>Td 4515</i>	12.39	7.09	57.2	<i>TRI 17204</i>	19.57	10.24	52.3
<i>FAR 5</i>	31.28	18.22	58.2	<i>FAR 10</i>	7.51	5.44	72.4
<i>FAR 17</i>	76.52	52.08	68.1	<i>FAR 23</i>	25.32	17.31	68.4
<i>FAR 32</i>	6.12	4.13	67.5	<i>FAR 41</i>	16.98	13.04	76.8
<i>FAR 51</i>	51.36	46.21	90.0	<i>FAR 59</i>	8.20	3.90	47.6
<i>FAR 60</i>	31.02	28.92	93.2	<i>FAR 64</i>	45.11	22.08	48.9
<i>TRI 18201</i>	14.59	5.75	39.4	<i>TRI 1770</i>	47.36	27.76	58.6
<i>BGE 021775</i>	24.89	9.14	36.7	<i>BGE 013643</i>	73.51	40.52	55.1
<i>BGE 013640</i>	79.65	48.13	60.4	<i>BGE 013621</i>	32.00	34.5	107.8
<i>BGE 12311</i>	39.10	23.18	59.3	<i>BGE 012308</i>	54.47	39.89	73.2
<i>BGE 012306</i>	69.13	36.00	52.1	<i>BGE 012304</i>	70.23	45.66	65.0
<i>BGE 012301</i>	36.02	20.11	55.8	<i>BGE 001927</i>	34.55	27.40	79.4
<i>CGN 8351</i>	19.69	3.94	20.0	<i>CGN 7967</i>	45.55	30.18	66.3
<i>CGN 11488</i>	56.88	33.33	58.6	<i>TRI 2883</i>	8.06	1.06	13.2
<i>Schw.Bohart.</i>	37.62	34.15	90.8	<i>Eichenbarleb.</i>	67.44	53.75	79.7
<i>CGN 8104</i>	20.16	6.12	30.4	<i>CGN 8354</i>	71.75	49.93	69.6
<i>v.Rufum 2</i>	24.33	11.34	46.6	<i>Di 4</i>	32.50	14.41	44.3
<i>Di 5</i>	17.97	8.13	45.2	<i>TRI 11293</i>	12.86	5.00	38.9
<i>Ai-bian1</i>	81.15	68.14	77.3	<i>Amigo</i>	28.42	16.59	58.4

Z uvedených hodnôt možno zistiť, že najvyššiu hodnotu infekčnej účinnosti patogéna na primárnom aj terciárnom liste sme zaznamenali na kontrolnej náchylnej odrode Ai-bian1. Hodnota infekčnej účinnosti na primárnom liste (IE1) bola u nej 81.15, čo znamená, že na každých 100 inokulovaných spór, ktorých vývin sa zastavil v štádiu apresória, pripadá cca 81 takých spór, vývin ktorých sa za 48 hodín od inokulácie dostal až do štádia predĺženej sekundárnej hýfy (ESH). Infekčná účinnosť na terciárnom liste poklesla na 68.1, čo je opäť najvyššia hodnota na terciárnom liste z celého analyzovaného súboru. Pri infekčnej účinnosti platí záporná závislosť medzi jej hodnotou a stupňom nešpecifickej rezistencie, t.j. čím je vyššia hodnota infekčnej účinnosti, tým je nešpecifická rezistencia slabšia, alebo čím je nižšia hodnota infekčnej účinnosti patogéna na danom genotype hostiteľa, tým je hodnota nešpecifickej rezistencie vyššia.

Hodnoty nešpecifickej rezistencie na druhej kontrolnej odrode Amigo, ktorá sa spomedzi odrôd pšenice letnej vyznačuje vysokým stupňom rezistencie voči múčnatke trávovej na pšenici, sú v porovnaní s odrodou Ai-bian1 oveľa nižšie, ale nie najnižšie. Ak zoberieme ako kritérium hodnotu IE na terciárnom liste, môžeme konštatovať, že až 21 genotypov pšenice dvojrzbovej vykázalo vyššiu úroveň nešpecifickej rezistencie ako Amigo (IE3=16.6). Spomedzi nich bolo 13 genotypov, u ktorých hodnota IE3 bola nižšia ako 10. K najrezistentnejším genotypom na základe uvedených výsledkov môžeme zaradiť vzorky

TRI 5329, TRI 2883, TRI 18201, TRI 11293, FAR 10, FAR 32, FAR 59, CGN 8351, CGN 8104 a CGN 10426. Vysokou hodnotou infekčnej účinnosti patogéna na terciárnom liste, a teda nižšou špecifickou rezistenciou sa vyznačujú vzorky TRI 6158, FAR 17, FAR 51, BGE 013640, BGE 012304, odroda Eichenbarlebener a CGN 8354.

Najviac analyzovaných vzoriek pochádzalo z Talianska, Španielska (po 11) a z Nemecka (6). Z talianskych vzoriek sa 3 vzorky vyznačovali relatívne vysokou úrovňou nešpecifickej rezistencie ( $IE3 < 5.5$ ), zatiaľ čo slabšia nešpecifická rezistencia bola zistená u dvoch vzoriek ( $IE3 > 46$ ). Zo španielskych vzoriek sa BGE 021775 javila ako najrezistentnejšia ( $IE3 = 9.14$ ), vyššiu hodnotu  $IE3$  ako 45 mali dve vzorky. Z Nemecka pochádzajúca vzorka TRI 2883 sa vyznačovala najvyššou úrovňou nešpecifickej rezistencie spomedzi všetkých vzoriek ( $IE3 = 1.06$ ). Ku genotypom s vysokou rezistenciou voči múčnatke trávovej na pšenici môžeme zaradiť aj vzorku CGN 8351. Naopak, v skupine málo rezistentných vzoriek sa nachádzali dve vzorky CGN 11488 ( $IE1 > 56$ ) a kultivar Eichenbarlebener ( $IE3 > 53$ ), ktorý bol zo všetkých vzoriek pšenice dvojrzmovej najnáchylnejší. K rezistentným odrodám môžeme zaradiť aj švajčiarsku vzorku TRI 5329 ( $IE3 < 3.5$ ) a zo Slovenska pochádzajúcu vzorku TRI 11293 ( $IE3 = 5$ ).

Spomedzi vzoriek, ktoré sme na základe kritéria  $IE3$  označili ako najrezistentnejšie, sa 8 z nich vyznačovalo hodnotou indexu redukcie ( $IE3/IE1 \times 100$ ) nižšou ako 50, pričom u väčšiny z nich sa táto hodnota pohybovala v rozmedzí 13 – 40. Tento index by sme mohli interpretovať nasledovne: ak predpokladáme, že hodnota infekčnej účinnosti daného genotypu na primárnom liste je = 100%, potom vplyvom pôsobenia génov nešpecifickej rezistencie hodnota infekčnej účinnosti na terciárnom liste poklesne na x percent v porovnaní s primárnym listom. Zároveň môžeme povedať, že platí závislosť, že čím je väčší pokles  $IE$  – teda nižšie vypočítané percento, alebo väčšia redukcia, väčší rozdiel medzi hodnotami na primárnom a terciárnom liste, tým je stupeň nešpecifickej rezistencie hostiteľského genotypu vyšší. Napríklad nemecká vzorka CGN 8351 je rezistentnejšia ako rakúska vzorka CGN 11488, pretože hodnota infekčnej účinnosti na terciárnom liste u nej predstavuje iba 20% z infekčnej účinnosti na primárnom liste, kým infekčná účinnosť patogéna na CGN 11488 bola vyššia, pretože hodnota  $IE$  na terciárnom liste predstavuje u tejto vzorky až 58% z hodnoty  $IE1$ . Pri dvoch rezistentných vzorkách FAR 10 a FAR 32 bola hodnota tohto indexu 72.4, resp. 67.5 (tab.1). Oba tieto genotypy sa zároveň vyznačovali nízkou  $IE$  už na primárnom liste (7.5 a 6.1). To znamená, že tento index redukcie nemôže byť zovšeobecneným parametrom nešpecifickej rezistencie. Inak povedané, len na základe tohto indexu nemôžeme vyselektovať všetky rezistentné genotypy.

## Diskusia

Cieľom našich experimentov bolo nájsť spôsob, ako čo najjednoduchšie a najrýchlejšie identifikovať genetické zdroje nešpecifickej rezistencie husto siatych obilnín voči hubovým chorobám. Keďže poľné metódy detekcie rezistencie sú relatívne náročné na čas, experimentálnu plochu, prípravu a realizáciu experimentov, našou snahou bolo dokázať, že aj v laboratórnych podmienkach je možné vyselektovať rezistentné genotypy. Aby boli postupy na detekciu nešpecifickej rezistencie čo najrýchlejšie a najjednoduchšie, zvolili sme si cytologický marker  $IE$  ako parameter na vyjadrenie stupňa rezistencie. Súčasne sme usúdili, že stupeň nešpecifickej rezistencie sa môže zvyšovať podobne ako u adultívnej rezistencie s vyšším ontogenetickým štádiom hostiteľa. Našou hypotézou bol predpoklad, že ak sa rezistencia prejaví už v juvenilnom štádiu, mala by byť rovnaká, alebo vyššia aj v adultívnom štádiu. Z tohto dôvodu sme sa rozhodli analyzovať  $IE$  na primárnom aj terciárnom liste. Tak nešpecifickú, ako aj adultívnu rezistenciu možno analyzovať kvantitatívnymi metódami (Boyle et Aust, 1997). Nešpecifický charakter adultívnej rezistencie potvrdili viacerí autori, medzi nimi napr. Hyde (1976), Douglas et al. (1984), Carver (1986). Hwang et Heitefuss

(1982) poukázali na to, že kvantitatívne rozdiely je ťažšie identifikovať v štádiu kľúčnych listov, ale štádium tretieho a piateho listu je na tieto účely postačujúce. V našom experimente boli odrody dostatočne diferencované na základe hodnôt IE na primárnom, ako aj terciárnom liste. Výsledky sú v súlade s tvrdením vyššie menovaných autorov, pretože diferenciácia medzi genotypmi bola vyššia na terciárnom ako primárnom liste, ak túto diferenciáciu vyjadríme pomocou variačného koeficientu (v%). Kým variačný koeficient vypočítaný z hodnôt IE na primárnom liste bol  $v\% = 56.6$ , na terciárnom liste to bolo až 66.8.

Z troch sledovaných parametrov (IE1, IE3 a  $IE3/IE1 \times 100$ ) sa zdá, že IE3 je najvyhovujúcejší. Ako už bolo spomenuté, index redukcie nepodchyť všetky rezistentné genotypy, a to najmä tie, u ktorých je hodnota infekčnej účinnosti nižšia už na primárnom liste. Tento index nám viac hovorí o prudkosti, strmosti redukcie IE v závislosti od ontogenetického štádia hostiteľa ako o stupni nešpecifickej rezistencie. U genotypov ako FAR 10 a FAR 32, u ktorých je vysoká úroveň rezistencie už v počiatočných fázach vývoja, by sme mohli uvažovať aj o kombinovanej špecifickej a nešpecifickej rezistencii.

Nevyhnutnou otázkou, ktorá vyplýva z analýzy rezistencie v juvenilnom štádiu je otázka, do akej miery možno zistené výsledky extrapolovať aj na adultívne štádia analyzovaných genotypov. Kmecl et al. (1995), ktorí použili množstvo tvoriacich sa papíl ako cytologický marker na vyjadrenie kvantitatívnej rezistencie zistili, že takto v laboratóriu zistené rozdiely medzi genotypmi na 70% korelovali s údajmi v poľných pokusoch. Aj naše dosiaľ nepublikované výsledky potvrdili zhodu medzi poľnými pokusmi ÚKSUP-u a našimi laboratórnymi v rámci identických súborov hexaploidných pšeníc.

Na základe našich doterajších experimentov a v odbornej literatúre publikovaných údajov môžeme vysloviť presvedčenie, že pomocou laboratórných pokusov je možné charakterizovať genotypy obilnín aj podľa ich nešpecifickej rezistencie. Využitie cytologické markery na identifikáciu NSR by mohlo byť vhodné najmä v skorých generačných cykloch šľachtiteľského procesu, ako aj na charakterizáciu vzoriek a vyhľadávanie genetických zdrojov rezistencie v génových bankách, kde je sústredené veľké množstvo genotypov. Využitie laboratórných metód v porovnaní s poľnými má výhodu v tom, že sú časovo aj finančne menej náročné, nie sú závislé na vonkajšom infekčnom tlaku a genotypy je možné charakterizovať aj mimo vegetačného obdobia.

### **Acknowledgement**

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu vedy a techniky na základe Zmluvy č.APVT-27-028704 a č.APVV-0770-07.

### **Literatúra**

- Andersen J.B., Torp J. (1986): Quantitative analysis of the early powdery mildew infection stages on resistant barley genotypes. *J. Phytopath.* 115, 173-186.
- Boyle C., Aust H.J. (1997): Ontogenically determined resistance (adult plant resistance). pp255-271. *In: Resistance of crop plants against fungi. Edited by Hartleb H., Heitefuss R., Hoppe H.H., Gustav Fisher Verlag, Jena.*
- Broers L.H.H. (1989): Partial resistance to wheat leaf rust in 18 spring wheat cultivars. *Euphytica* 44, 247-258.
- Broers L.H.H., Subias C.X., Atilano L.R.M. (1996). Field assesment of quantitative resistance to yellow rust in ten spring bread wheat cultivars. *Euphytica* 90, 9-16.
- Carver T.L.W.: (1986): Histology of infection by *E. graminis* f.sp.*hordei* in spring barley lines with various levels of partial resistance. *Plant pathol.* 35, 232-240.

- Douglas S.M., Sherwood R.T., Lukezic F.L. (1984):. Effect of adult plant resistance on primary penetration of oats by *E. graminis* f.sp.*avenae* . *Physiol. Plant Pathol.* 25, 219-228.
- Hwang B.K., Heitefuss R. (1982):. Characterisation of adult plant resistance of spring barley to powdery mildew (*E. graminis* f.sp.*hordei*) .II. Infection process at different leaf stages. *Phytoph. Z.* 104, 179-190.
- Hyde P.M. (1976):. Comparative studies of the infection of flag leaves and seedling leaves of wheat by *Erysiphe graminis*. *Phytopath. Z.* 85, 289-297.
- Hyde P.M. , Colhoun J. (1975):. Mechanisms of resistance of wheat to *E.graminis* f.sp.*tritici*. *Phytopath.Z.* 82, 185-206.
- Kmecl A., Mauch F., Winzeler M., Dudler R. (1975):. Quantitative field resistance of wheat to powdery mildew and defense reactions at the seedling stage: identification of a potential marker. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 47,: 185-199.
- Krattinger S.G., Lagudah E.S., Spielmeier W.,Singh R.P., Huerta-Espino J., McFadden H., Bossolini E., Selter L.L., Keller B. (2009):. A putative ABC Transporter Confers Durable Resistance to Multiple Fungal Pathogens in Wheat. *Science* 323, 1360-1363.
- Miedaner T., Sperling U. (1995):. Effect of leaf rust on yield components of winter rye hybrids and assesment of quantitative resistance. *J.Phytopath.* 143, 725-730.
- Miedaner T., Schmidt H.K., Geiger H.H. (1993):. Components of variation for quantitative adult plant resistance to powdery mildew in winter rye. *Phytopathology* 83, 1071-1075.
- Parlevliet J.E. (1979):. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. *Annu. Rev, Phytopath.* 17, 203-222.
- Shaner G. (1973):. Reduced infectability and inoculum production as factors of slow-mildewing in Knox wheat. *Phytopathology* 63 1307-1311.

## **Přímé testy virulence padlí travního (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*) k odrůdám pšenice se specifickými geny rezistence - Direct tests virulence of powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*) to wheat specific genes of resistance**

Ing. Lubomír Věchet, CSc,  
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha - Ruzyně  
e-mail: [vechet@vurv.cz](mailto:vechet@vurv.cz)

### **Abstrakt**

Přímé testy virulence padlí travního (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*) na odrůdách pšenice s 18 specifickými geny rezistence ukázaly, že virulence v populaci kolísaly v sedmi letech pokusů. Nejvyšší virulence ke sledovaným genům rezistence v průměru byla v roce 2004 a 2006. Během sedmi let nedošlo k větším výkyvům ve virulenci populace padlí travního ke sledovaným genům rezistence pšenice. V populaci padlí travního převládala virulence ke specifickým genům rezistence *Pm2*, *Pm3f* a *Pm4a*. Nejvyšší frekvence virulence ke genu rezistence *Pm4a* byla v roce 2004 a v roce 2006.

**Klíčová slova:** padlí travní; virulence populace; frekvence virulence; pšenice; specifické geny rezistence

### **Abstract**

Direct tests of powdery mildew virulence (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*) on wheat cultivars with 18 specific genes of resistance showed that virulence in population fluctuated in seven years of experiments. The highest virulence in average to monitored genes of resistance was in the years 2004 and 2006. During seven years not happened bigger differences in virulence of powdery mildew to followed genes of resistance. In powdery mildew population virulence to specific genes of resistance *Pm2*, *Pm3f* a *Pm4a* predominated. The highest virulence to the genus *Pm4a* was in the years 2004 and 2006.

**Key words:** powdery mildew; population virulence; virulence frequency; wheat; specific genes of resistance

### **Úvod**

Virulence může být uvažována jako kvalitativní nebo binární znak související s rasově-specifickými geny rezistence (Kranz a Rotem, 1988). Podle těchto autorů každá rasová analýza je také analýza virulence. Opak ale nemusí být vždy pravdou. To je proto, že virulence může být analyzována pomocí náležité jediné rezistentní linie hostitele, zatímco rasa může být určena pouze na řadě diferenciací liniích hostitele. Z tohoto důvodu má termín „analýza virulence“ méně přesný význam. Testy virulence mohou být přímé nebo nepřímé. To je důležité pro vzorkování. Prvně jmenované testy zahrnují přímé vystavení diferenciací odrůd přirozené infekci, to je „mobilní školky“. Pro nepřímé testy virulence jsou patogenní houby izolovány anebo množeny za kontrolovaných podmínek před inokulací diferenciací řady. Vzorkovací jednotky pro nepřímé testy mohou být sebrány jako ochořelé listy nebo kolonie ze spor chytaných na náchylných semenáčích.

Cílem pokusů bylo zjistit virulenci přirozené populace padlí travního k diferenciacímu sortimentu odrůd pšenice se specifickými geny rezistence.



## Materiál a metody

Jako diferenční sortiment bylo použito 18 odrůd pšenice se specifickými geny rezistence k padlí travnímu. Pokusy proběhly v letech 2003 – 2009- Každá odrůda v maloparcelkových pokusech byla vyseta na 1m<sup>2</sup>. Následující parcelka byla oddělena 1m<sup>2</sup> plochy oseté řepkou. Hodnocení závažnosti padlí travního (Kranz & Rotem 1988) bylo provedeno v 9-ti bodové stupnici podle Saari and Prescott (1975), jako procento tkáně listu pokryté příznaky choroby. Závažnost choroby byla vyjádřena jako kumulativní procento napadení – CPLAD (Věchet and Kocourek 1987, Brière et al. 1994). Hodnocení bylo děláno všech živých listech rostlin. Hodnoceno bylo 15 rostlin ve čtyřech opakováních.

## Výsledky

Závažnost padlí travního na testovacím sortimentu pšrůd pšenice byla ve sledovaných letech odlišná (Tab. 1) a měnila se v závislosti na průběhu počasí. Nejvyšší výskyt choroby byl v roce 2004 a nejnižší v roce 2003.

Tab. 1. Virulence populace padlí travního (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*) k diferenčnímu sortimentu odrůd pšenice.

Ozimá pšenice	Geny rezistence	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	Průměr
Axminster/8*CC	<i>Pm1</i>	0,4	7,9	11,3	56,7	4,3	23,2	7,6	<b>15,9</b>
Ulka/8*CC	<i>Pm2</i>	0,4	97,2	44,3	67,0	26,4	21,1	7,0	<b>37,6</b>
Asosan/8*CC(DH line)	<i>Pm3a</i>	0,0	46,9	12,3	16,0	2,7	12,1	8,0	<b>14,0</b>
Chul/8*CC	<i>Pm3b</i>	0,1	19,0	4,6	28,6	48,2	2,8	8,3	<b>15,9</b>
Sonora/8*CC	<i>Pm3c</i>	1,5	59,0	14,4	14,4	11,4	6,1	7,9	<b>16,4</b>
Ralle	<i>Pm3d</i>	-	0,0	4,7	3,9	4,0	4,4	-	<b>3,4</b>
Michigan Amber	<i>Pm3f</i>	-	74,7	74,7	16,6	-	11,5	6,5	<b>36,8</b>
Khapli/8*CC	<i>Pm4a</i>	0,9	123,9	15,4	70,1	32,6	17,8	6,8	<b>38,2</b>
Ronos(DH line)	<i>Pm4b</i>	0,2	27,2	0,2	15,2	3,8	1,5	7,7	<b>8,0</b>
Rektor(DH line)	<i>Pm5</i>	0,0	28,7	0,7	2,9	0,0	3,7	8,3	<b>6,3</b>
NK-747	<i>Pm6</i>	0,2	19,7	1,5	4,6	2,5	2,7	7,1	<b>5,5</b>
Transfed	<i>Pm7</i>	-	-	-	-	-	9,8	-	-
Disponent(DH line)	<i>Pm8</i>	0,9	93,4	1,5	14,8	1,7	9,9	6,8	<b>18,4</b>
Amigo	<i>Pm17</i>	0,0	1,6	0,0	1,1	0,0	2,1	8,3	<b>1,9</b>
Maris Huntsman(DH line)	<i>Pm2, 6</i>	0,0	49,5	0,2	4,2	1,8	6,9	7,4	<b>10,0</b>
Apollo	<i>Pm2, 4b, 8</i>	0,1	53,8	1,9	4,5	0,9	12,5	7,7	<b>11,6</b>
Maris Dove	<i>Pm 2+Mld</i>	0,1	15,6	1,0	6,5	0,2	4,9	8,1	<b>5,2</b>
<b>Jarní pšenice</b>									
Normadi	<i>Pm1, 2, 9</i>	-	-	-	-	29,7	2,4	8,0	<b>13,4</b>
<b>Průměr</b>		<b>0,3</b>	<b>47,9</b>	<b>7,2</b>	<b>20,4</b>	<b>8,7</b>	<b>8,6</b>	<b>7,6</b>	<b>15,2</b>
<b>Rozdíl mezi max. a min.</b>		<b>1,5</b>	<b>122,3</b>	<b>74,7</b>	<b>69,0</b>	<b>48,2</b>	<b>21,7</b>	<b>1,8</b>	

Nejvyšší virulence v roce 2003 byla ke genu rezistence *Pm3c*, odrůda Sonora. V roce 2004 ke genu *Pm4a*, odrůda Khapli, v roce 2005 ke genu rezistence *Pm3f*, odrůda Michigan Amber, v roce 2006 ke genu *Pm4a*, odrůda Khapli. V roce 2007 byla nejvyšší virulence ke genu rezistence *Pm3b*, odrůda Chul, v roce 2008 ke genu *Pm1*, odrůda Axminster a v roce 2009 ke genům *Pm3b*, odrůda Chul, k *Pm5*, odrůda rektor a k *Pm17*, odrůda Amigo. V průměru za sedm let sledování byla nejvyšší virulence v populaci padlí travního ke genu rezistence *Pm4a*, odrůda Khapli. Nejvyšší virulence k tomuto genu byla v letech 2004 a 2006. Následovala virulence ke genu rezistence *Pm2*, odrůda Ulka a *Pm3f*, odrůda Michigan Amber. Odrůdy Khapli, Ulka s těmito geny rezistence byly testovány ve všech letech pokusu. Odrůda Michigan Amber s genem *Pm3f* nebyla testována v letech 2003 a 2007. Naopak, nejnižší virulence byla v průměru ke genu rezistence *Pm17*, odrůda Amigo. Následovala virulence ke genu rezistence *Pm2+Mld*, odrůda Maris Dowe a k *Pm6*, odrůda NK-747. Největší rozdíly mezi maximální a minimální virulencí byly v roce s nejvyšším výskytem choroby (2004) a nejnižší rozdíly byly v letech s nejnižším výskytem padlí (2003 a 2009).

Nevyšší frekvence virulence (Tab. 2) v roce 2003 byla u části populace padlí travního překonávající gen rezistence *Pm3c*, v roce 2004 gen *Pm4a*, v roce 2005 gen rezistence *Pm3f*, v roce 2006 překonávající opět gen rezistence *Pm4a*, v roce 2007 gen *Pm3b*, v roce 2008 gen *Pm1* a v roce 2009 gen *Pm3b*. Výsledky ukazují, že nejvyšší frekvence opakující se ve dvou letech byla ke genu rezistence *Pm4a* (2004 a 2006) a ke genu *Pm3b* (2007 a 2009).

Tab. 2. Frekvence virulence padlí travního (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*) vyjádřená jako procento k maximální virulenci proti specifickým genům rezistence v jednotlivých letech pokusu.

	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
<i>Pm1</i>	27	6	15	81	9	100	92
<i>Pm2</i>	27	79	59	96	55	91	84
<i>Pm3a</i>	0	38	17	23	6	52	96
<i>Pm3b</i>	7	16	6	41	100	12	100
<i>Pm3c</i>	100	48	19	21	24	26	95
<i>Pm3d</i>	-	-	6	6	8	19	-
<i>Pm3f</i>	-	60	100	24	-	50	78
<i>Pm4a</i>	60	100	21	100	68	77	82
<i>Pm4b</i>	13	22	1	22	4	7	93
<i>Pm5</i>	0	23	1	4	0	16	100
<i>Pm6</i>	13	16	2	7	5	12	86
<i>Pm7</i>	-	-	-	-	-	42	-
<i>Pm8</i>	60	75	2	21	4	43	82
<i>Pm17</i>	0	1	0	2	0	9	100
<i>Pm2,6</i>	0	40	1	6	4	30	89
<i>Pm2,4b, 8</i>	7	43	3	6	2	54	93
<i>Pm2+Mld</i>	7	13	1	9	1	21	98
<i>Pm1, 2, 9</i>	-	-	-	-	62	10	96

## Diskuse

Výskyt padlí travního v sedmi letech pokusu kolísal spolu s virulencí populace. Nejvyšší virulence ke sledovaným genům rezistence v průměru byla v roce 2004 a 2006. Absolutně nejnižší virulence byla v roce 2003. Z pokusů je zřejmé, že nedošlo, během sedmi let, k větším výkyvům ve virulenci populace k jednotlivým genům rezistence zahrnutých

v testech. V populaci padlí travního převládala virulence ke specifickým genům rezistence *Pm2*, *Pm3f* a *Pm4a*. Na stabilitu populace padlí travního v Polsku upozornili Strzembicka a Lazarska (1996), kde v letech 1981-1985 a 1989-1995 byla nejvyšší frekvence virulence ke genům *Pm1*, *Pm2*, *Pm5*, *Pm7* a *Pm8*. Švec a Mklvičová (1988) zjistili, že v populaci padlí travního z České republiky a zvláště v západních oblastech byly nejvyšší hodnoty virulence proti genu rezistence *Pm4*. V našich pokusech to bylo proti genu *Pm4a*. Podobně Szunics and Szunics (1998) zjistili v Maďarsku malé změny v populaci padlí travního na pšenici během období 2-5 let a větší v období 5-7 let. Kolísání ve vzorech virulence k 18 testovaným genům rezistence bylo silně ovlivněno podmínkami počasí v jednotlivých letech pokusů. Nejvíce příznivé podmínky pro rozvoj padlí travního byly v roce 2009 a nejméně příznivé v roce 2003. Nejvyšší frekvence virulence ke genu rezistence *Pm4a* byla v roce 2004 a v roce 2006. Podle Švece a Miklovičové (1998) je zřejmé, že vývoj populace padlí travního v centrální Evropě se nevyskytoval ve stejném čase a stejnou měrou ve všech zemích oblasti.

Naše výsledky ukázaly na důležitost sledování virulence populace nejen padlí travního, ale i ostatních významných chorob obilnin.

### **Acknowledgement**

Tento výzkum byl podporován projektem Číslo 602700602 Ministerstva Zemědělství České Republiky.

### **Literatura**

- Brière S.C., Kushalappa A.C., Mathe D.E. (1994): Screening for partial resistance to an isolate of crown rust (*Puccinia recondita* f.sp. *avenae*) race 264 in oat cultivars and breeding lines. Can. J. Plant Pathol. 16, 4-55
- Kranz J., Rotem J. (1988): Experimental Techniques in Plant Disease Epidemiology. Springer-Verlag Heidelberg, 1 - 299.
- Saari E.E., Prescott J.M. (1975): A scale for appraising the foliar intensity of wheat diseases. Plant Dis. Rep. 59: 377-380.
- Strzembicka A., Lazarska B. (1996): Virulence structure of wheat powdery mildew (*Erysiphe graminis* f.sp. *tritici*) population in Poland. Proc. of the 9<sup>th</sup> European and Mediterranean Cereal Rust & Powdery Mildews Conference 2-6.
- Strzembicka A., Lazarska B. (1996): Virulence structure of wheat powdery mildew (*Erysiphe graminis* f.sp. *tritici*) population in Poland. Proc. of the 9<sup>th</sup> European and Mediterranean Cereal Rust & Powdery Mildews Conference 2-6 September 1996, Lunteren, The Netherlands. 147.
- Švec M., Miklovičová M. (1998): Structure of populations of wheat powdery mildew *Erysiphe graminis* DC f.sp. *tritici* Marchal) in central Europe. 1993-1996: European Journal of Plant Pathology 104: 6, 537-544.
- Szunics L., Szunic, L. (1998): Evolution of wheat powdery mildew populations 1971-1997 in Hungary. ICCP 1998.
- Věchet L., Kocourek F. (1987): The effect of the time of treatment of *Erysiphe graminis* f.s. *hordei* and on it causes to spring barley. Ochrana Rostlin, 23: 117-124.

## Výskyt braničnatky pšeničné u jarní pšenice a jarního tritordea v polních infekčních testech - Incidence of Septoria leaf blotch in spring wheat and spring tritordeum in field infection tests

Ing. Petr Martínek, CSc.<sup>1</sup>, RNDr. Jarmila Mikulkcová<sup>1</sup>, Ing. Lubomír Věchet, CSc.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Agrotest fyto, s.r.o., Kroměříž

<sup>2</sup>Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha - Ruzyně

e-mail: [martinek.petr@vukrom.cz](mailto:martinek.petr@vukrom.cz)

### Abstrakt

V letech 2008 a 2009 byly prováděny testy odolnosti 18 registrovaných odrůd jarní pšenice (*Triticum aestivum* L.) v České republice, 10 linií jarního hexaploidního tritordea (*X Tritordeum* Ascherson et Graebner), jedné linie hexaploidní syntetické pšenice CIGM93.266 a jedné hexaploidní linie označené Denti de cani C.P. (*X Haynaldoticum sardoum* Meletti et Onnis) k šesti rozdílným izolátům braničnatky pšeničné (*Mycosphaerella graminicola* /Fuckel/ J. Schröt.). Každý rok byla testována reakce genotypů ke třem různým izolátům braničnatky, které byly použity pro umělou infekci. Jako kontrola byla použita varianta bez umělé infekce. Stupeň virulence byl hodnocen jako průměrné napadení 4 horních listů v procentech. U odrůd pšenice byl stupeň napadení výrazně ovlivněn klimatickými podmínkami v hodnoceném ročníku a virulencí použitého izolátu. Odrůdy pšenice byly napadeny umělou infekcí v průměru z 4,14 % (kontrola 0,68 %), tritordeum z 0,04 % (kontrola 0,03%). Syntetická pšenice CIGM93.266 byla napadena velmi nepatrně z 0,23 % (kontrola 0 %), Denti de cani C.P. bylo napadeno z 0,15 % (kontrola 0 %). Výsledky potvrdily vysokou úroveň rezistence tritordea, haynaldotikum a syntetické pšenice. Může se jednat o potenciální donory rezistence využitelné ve šlechtění.

**Klíčová slova:** braničnatka pšeničná; jarní pšenice; tritordeum; syntetická pšenice; haynaldotikum; rezistence

### Abstract

In 2008 and 2009, tests for resistance to six different isolates of Septoria leaf blotch (*Mycosphaerella graminicola* /Fuckel/ J. Schröt.) were carried out in 18 cultivars of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) registered in the Czech Republic, 10 lines of spring hexaploid tritordeum (*X Tritordeum* Ascherson et Graebner), a line of hexaploid synthetic wheat CIGM93.266, and a hexaploid line designated Denti de cani C.P. (*X Haynaldoticum sardoum* Meletti et Onnis). Responses of the genotypes to three different Septoria leaf blotch isolates used for inoculation were tested each year. A check variant was not inoculated. A level of virulence was rated as an average infection of four upper leaves in per cent. In wheat cultivars, the infection was considerably affected by seasonal climatic conditions and virulence of the isolate used. The average infection was 4.14 % in wheat (check 0.68) and 0.04 % in tritordeum (check 0.03 %). Very low infection 0.23 % was also assessed in the synthetic wheat CIGM93.266 (check 0 %). The infection of Denti de cani C.P. was 0.15 % (check 0 %). Our results confirmed a high level of resistance in tritordeum, haynaldoticum and synthetic wheat. These can be potential donors of resistance to Septoria leaf blotch for breeding use.

**Key words:** Septoria leaf blotch; spring wheat; tritordeu; synthetic wheat; haynaldoticum; resistance

## Úvod

Braničnatka pšeničná (*Mycosphaerella graminicola*) je jednou z nebezpečných houbových chorob pšenice, způsobujících značné výnosové ztráty. Projevuje se ve všech vývojových fázích a na všech nadzemních částech rostliny. Primárním příznakem jsou široce oválné, sytěji zelené, 'olejové' skvrny, které se stávají se nepravidelnými, rychle zasychají. Na napadeném pletivu se tvoří množství plodniček houby, viditelných jako drobné černohnědé tečky. Při projevu onemocnění v pozdějších fenofázích se objevují protáhlé, žluté, rychle zasychající skvrny, které často splývají. Napadené listy obvykle odumírají. Braničnatka patří k fakultativním patogenům, přežívá na odumřelých rostlinných zbytcích na pozemku. Infikuje i zrno, zdrojem primární infekce tak může být jak pozemek, tak osivo. Během vegetace se šíří ze spodních listů na horní a na další rostliny sporami, které se tvoří v plodničkách na napadeném pletivu. Pro vznik infekce a šíření onemocnění je třeba alespoň 6 hodin ovlhčení rostlin, nejintenzivněji se skvrny na listech vytvářejí při teplotě 15 - 25 °C. K většímu výskytu braničnatky dochází po mírné zimě a při zpracování půdy s vynecháním orby (<http://syngenta.cz/cz/atlas/choroby/branicnatka-psenicna.html>).

U pšenice existují donory odolnosti k braničnatce, u kterých jsou do určité míry známy i odpovídající geny rezistence (*Stb* - septoria tritici blotch). Vzhledem ke značně proměnlivému spektru virulence jednotlivých patotypů patogena vykazují jednotlivé geny rezistence rovněž proměnlivou míru exprese. Šlechtitelské využití donorů obvykle vyžaduje pyramidový způsob selekce, který umožňuje soustředit větší počet účinných genů rezistence do jednoho genotypu (Chartrainab et al, 2004). Tento přístup může vést k vytvoření odrůd s trvalejší odolností. Velký význam má získávání nových zdrojů rezistence z planých druhů. Kromě běžných odrůd pšenice seté *Triticum aestivum* L. ( $2n = 6x = 42$ , BBAADD) proto byly do pokusu zařazeny i některé netradiční obiloviny, jakými je například syntetická pšenice, haynaldotikum a tritordeum.

Syntetická pšenice ( $2n = 6x = 42$ , BBAAD<sup>t</sup>D<sup>t</sup>) vznikla křížením *Triticum durum* Desf. ( $2n = 4x = 28$ , BBAA) s *Aegilops squarrosa* L. /syn. *Triticum tauschii* (Coss.) Schmalh./ ( $2n = 2x = 14$ , D<sup>t</sup>D<sup>t</sup>). Od pšenice seté se odlišuje především genomem D<sup>t</sup> přeneseným z planého *Ae. squarrosa*, který může nést významné geny rezistence.

Haynaldotikum (X *Haynaldoticum sardoum* Meletti et Onnis) je údajným spontánním hybridem *Triticum durum* Desf. a *Haynaldia villosa* Schur, které bylo nalezeno a zemědělsky využíváno na jihu Itálie (Meletti, et al., 1977, 1996). Haynaldotikum je allohexaploid, který se výrazně odlišuje od běžné pšenice seté velmi řídkým klasem, vysokým obsahem bílkovin a vysokou tvrdostí zrna. Jeho genom je málo prozkoumaný.

Tritordeum je uměle vytvořený obilní druh, odvozený z křížení planého vytrvalého ječmene *Hordeum chilense* Roemer et Schultese ( $2n = 2x = 14$ ; H<sup>ch</sup>H<sup>ch</sup>) s hexaploidní (Martin a Chapman, 1977) a tetraploidní (Martin et al., 1999) pšenicí. Byla vytvořena řada syntetických allooktoploidních ( $2n = 8x = 56$ ; H<sup>ch</sup>H<sup>ch</sup>BBAADD) a allohexaploidních ( $2n = 6x = 42$ ; H<sup>ch</sup>H<sup>ch</sup>BBAA) forem označených souhrnně názvem tritordeum (X *Tritordeum* Ascherson et Graebner). *H. chilense* pochází z Chile a Argentiny a je zdrojem odolnosti k houbovým chorobám. V současnosti šlechtění tritordea probíhá v CSIC (Instituto De Agricultura Sostenible) v Cordobě ve Španělsku, kde byla vytvořena vzájemným křížením primárních oktoploidních a hexaploidních forem řada sekundárních (rekombinantních) hexaploidních forem s dostatečně širokou genetickou variabilitou využitelnou ve šlechtění. Vzorky tritordea byly zaslány do Agrotest fyto, s.r.o. v Kroměříži k výzkumným účelům. V Ústavu experimentální botaniky AVČR v.v.i. v Olomouci se z některých vzorků podařilo Ing. L. Ohnoutkové, Ph.D. odvodit dihaploidní (DH) formy.

Cílem práce bylo otestovat virulenci šesti odlišných izolátů *M. graminicola*, které byly připraveny ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby v Praze, otestovat míru rezistence

registrovaných odrůd jarní pšenice v ČR ve srovnání s vybranými netradičními obilovinami (syntetická pšenice, haynaldotikum a tritordeum) a najít potenciální donory rezistence.

### **Materiál a metody**

Na pracovišti Agrotest fyto, s.r.o. Kroměříž bylo prováděno testování 30 vzorků obilovin, které byly zastoupeny:

- 18 odrůdami jarní pšenice (Amaretto, Aranka, Brawura, Corso, Granny, Leguan, Munk, Sandra, Saxana, Septima, Siracl, SW Kadrijl, SW Kronjet, Trappe, Triso, Vánek, Vinjett, Zuzana) ze současného sortimentu registrovaných odrůd v České republice (ČR),
- jednou linií syntetické hexaploidní pšenice CIGM93.266 (původ: Crok 1/*Aegilops squarrosa* 517), která se vyznačovala vysokou odolností k houbovým chorobám na základě předchozích výsledků (tato linie byla vybrána ze souboru syntetických pšenic získaného z CIMMYT v Mexiku od Dr. M. van Ginkela a Dr. A. Mujeeb-Kazi na jaře 2003),
- jednou linií haynaldotikum s italským místním názvem Denti de cani C.V. (v překladu „psí zub“), která byla získána od Prof. Paolo Meletti z University of Pisa v Itálii (vzorek je uložen v Genové bance v Praze pod číslem EVIGEZ 401C2400003),
- 10 liniemi hexaploidního tritordea (HTC 1323DH, HTC 1331aDH, HTC 1331bDH, HTC 1331cDH, HT 135aDH, HT 135bDH, HTC 2060, HTC 2071, HTC 2083, HTC 2084), které byly poskytnuty Prof. A. Martinem ze Španělska.

Výše uvedené vzorky byly vysévány v roce 2008 a 2009 v Kroměříži do infekční školky. Jako předplodina byla použita ozimá řepka. Každý rok byl proveden výsev ručně do čtyř řad (záhonů), oddělených od sebe izolační vzdáleností asi 2,5 m. V roce 2008 byl každý vzorek vyset do čtyřřádkové parcely. Délka řádků byla 100 cm a šířka mezi řádky 12,5 cm. V roce 2009 byl výsev proveden do dvouřádkových parcel z důvodu potřeby šetření místem. Jednotlivé řady byly následně obsety izolační plodinou. V období plného odnožování byla každá ze tří řad naočkována jedním z izolátů, čtvrtá vysetá řada byla ponechána nenaočkována a byla pokládána za kontrolní variantu.

Izoláty braničnatky pšeničné byly namnoženy na maltoso-dextrátovém substrátu. Inokulace byla prováděna ručním rozprašovačem za chladnějšího počasí se zataženou oblohou tak, aby nehrozilo smytí spor následným deštěm. Inokulace byla prováděna na konci odnožování (obvykle ve druhé polovině května) izoláty uvedenými v tab. 1. V roce 2008 proběhla inokulace dne 22. 5. za teploty 17 °C a v roce 2009 dne 12. 5. za teploty 18 °C. 4 dny po inokulaci bylo zahájeno provádění pravidelného rosení porostů 4x denně po dobu 10 minut v tříhodinových odstupech (10:00, 13:00, 16:00, 19:00), které probíhalo přibližně do poloviny července.

Tab. 1. Přehled použitých izolátů pro umělou infekci v letech 2008 a 2009 (název odrůdy a číslo rostliny, S – skvrna číslo; CRI – číslo izolátu ve sbírce VÚRV)

1. izolát	Alibaba, 2007, Hadačka u Kralovic, Plzeň 1. list, S1(9); CRI 0361
2. izolát	Kanzler, 2007, 1.list, S1 (14); CRI 0016
3. izolát	Kanzler, 2007, V7, 2.list, S1(2-4), 2 ; CRI 0108
4. izolát	Meritto, 2008, Jehnědí, Ústí n. Orlicí, M4, 3. list S2(1); CRI 0324
5. izolát	Bardotka, 2008, Kuřim, Čejkovice, Pastviska, B5.S2(1); CRI 0323
6. izolát	CHUL, 2006 VURV, 23. list, S1(12), CRI 0271

Rosení bylo prováděno velmi drobnými kapkami vody pomocí trysek umístěných do porostu v třímetrových rozestupech pomocí výkonného čerpadla ovládaného časovým spínačem. Rosení umožnilo dostatečný rozvoj patogena pro hodnocení stupně napadení vyšetřovaných vzorků.

Hodnocení bylo prováděno u čtyř horních listů hlavních stébel (pro každý list zvlášť) vždy u 15 náhodně vybraných hlavních stébel z hodnocené parcelky. Procento napadení bylo stanoveno vizuálně podle hodnotící stupnice. Stupeň napadení byl vyjádřen jako průměr napadení hodnocených listů stanovený ve dvou termínech: období kvetení většiny vzorků, období mléčné zralosti (2008 - dne 20.6. a 11.7., 2009 - dne 20. 6. a 10.7.). Byly hodnoceny jen typické příznaky napadení listů (primární široce oválné, sytější zelené skvrny, stávající se nepravidelnými, s množstvím pyknid, viditelných jako drobné černohnědé tečky na odumírajících listech). Ve druhých termínech hodnocení se na listech vyskytovaly protáhlé žluté skvrny s množstvím pyknid na rychle zasychajících listech.

### **Výsledky a diskuse**

Rok 2008 se vyznačoval mnohem nižším výskytem braničnatky (v průměru 1,7 % listové plochy) než rok 2009 (3,4 %) (Tab. 2). Bylo to zapříčiněno vysokými průměrnými denními teplotami okolo 20 °C v době od 26.5. do 5. 6. 2008, které zabránily významnějšímu rozšíření choroby. Tuto skutečnost potvrzuje rovněž nerozšíření infekce na první horní list, který se objevuje na stéble nejpozději. I přes malé rozšíření umělé infekce bylo možné posoudit účinek jednotlivých izolátů. Nejúčinnější byl izolát č. 1, méně účinný byl izolát č. 2 a nejméně účinný izolát č. 3. Na neošetřené kontrole nebyl prakticky žádný výskyt braničnatky. Jednotlivé odrůdy reagovaly různě na rozdílné izoláty, což ukazuje na specifickou reakci jednotlivých odrůd.

V roce 2009 byl nejúčinnější izolát č. 5 (5,6 %), méně účinný byl izolát č. 4 (3,3 %) a nejméně účinný izolát č. 6 (1,3 %). Na kontrolní neošetřené variantě byl zaznamenán přirozený výskyt braničnatky 0,8 %. I zde jednotlivé izoláty vykazovaly rozdílný projev stupně virulence na testovaných odrůdách jarní pšenice. Nejvyšší odolnost k braničnatce se jevila v obou letech u odrůdy Trappe a v roce 2009 u odrůdy Septima. Jako odrůdy s nižší odolností se jevily Corso a Vinjett. Tyto výsledky bude potřeba prověřit ještě dalšími testy.

Zajímavé bylo, že u vybrané syntetické pšenice CIGM93.266, haynaldotikum a u všech 10 linií tritordea byl shodně nalezen velmi nízký nebo žádný výskyt infekce. Lze to dokumentovat stupněm jejich napadení ve srovnání s průměrem skupiny odrůd jarní pšenice. V obou hodnocených letech byly odrůdy pšenice napadeny v průměru z 4,14 % (kontrola 0,68 %), tritordeum 0,04 % (kontrola 0,03 %), syntetická pšenice CIGM93.266 z 0,23 % (kontrola 0 %) a Denti de cani C.P. z 0,15 % (kontrola 0 %). Výsledky potvrdily vysoký stupeň rezistence u tritordea, haynaldotikum Denti de cani C.P. a rovněž i syntetické pšenice CIGM93.266. Může se tedy jednat o potenciální donory rezistence využitelné ve šlechtění.

Výsledky potvrdily předpoklad, že nové geny rezistence lze s velkou pravděpodobností nalézat u planých forem. To proto, že u běžných odrůd pšenice, které jsou monokulturami pěstovanými obvykle na velkých plochách, má široké spektrum patogenů příznivé podmínky pro vyselektování mutantních virulentních genotypů.

Tab. 2. Virulence vybraných genotypů jarních obilovin k šesti různým izolátům braničnatky pšeničné v letech 2008 a 2009 (% napadení)

vzorek	genotyp (rok registrace) izolát č.		2008					2009				
			průměr kontrola				kontr -ola	průměr				
			1	2	3	1 - 3		4	5	6	4 - 6	
pšenice ( <i>Triticum aestivum</i> L., 2n = 6x = 42, BBAADD)												
1	Amaretto	2006	5,5	4,0	1,5	3,7	0,0	1,7	5,8	2,0	3,2	2,4
2	Aranka	1998	8,8	2,0	0,5	3,8	0,0	1,4	3,2	3,1	2,6	1,4
3	Brawura	2007	6,2	1,5	1,0	2,9	0,0	2,3	3,3	3,7	3,1	1,9
4	Corso	2001	4,5	2,5	0,2	2,4	0,0	11,0	21,5	3,3	12,0	8,2
5	Granny	2004	7,0	1,3	0,2	2,8	0,0	10,0	13,2	0,5	7,9	0,4
6	Leguan	1998	3,3	3,3	1,2	2,6	0,0	8,7	3,6	0,4	4,2	1,5
7	Munk	1995	5,5	2,8	0,0	2,8	0,0	4,8	4,4	1,5	3,6	0,5
8	Sandra	1984	4,5	4,0	0,0	2,8	0,0	3,4	5,4	3,0	3,9	2,7
9	Saxana	1990	3,8	0,8	0,1	1,6	0,0	6,9	2,7	0,7	3,4	1,0
10	Septima	2008	2,9	2,8	2,7	2,8	0,0	2,3	1,8	0,3	1,5	0,0
11	Sirael	2005	5,2	1,7	0,0	2,3	0,0	1,3	18,8	2,7	7,6	0,7
12	SW Kadrijl	2006	6,7	3,0	0,4	3,3	0,0	1,2	15,1	2,5	6,2	0,5
13	SW Kronjet	2005	3,8	2,1	0,5	2,1	0,0	10,0	5,4	4,7	6,8	1,0
14	Trappe	2007	3,5	1,0	0,0	1,5	0,0	0,2	2,5	1,2	1,3	0,2
15	Triso	2002	3,8	5,0	0,3	3,1	0,0	9,3	11,2	5,4	8,6	0,7
16	Vánek	2004	8,2	3,5	0,1	3,9	0,2	7,1	4,8	1,1	4,3	0,5
17	Vinjett	2001	8,2	2,7	0,0	3,6	0,0	11,0	19,1	1,0	10,2	0,5
18	Zuzana	2003	4,5	0,2	0,2	1,6	0,0	3,4	23,1	1,4	9,3	0,5
	průměr		5,3	2,5	0,5	2,8	0,0	5,3	9,1	2,1	5,5	1,3
syntetická pšenice (2n = 6x = 42, BBAAD <sup>t</sup> D <sup>t</sup> )												
19	CIGM93.266		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,9	0,4	0,5	0,0
haynaldotikum ( <i>X Haynaldoticum sardoum</i> Meletti et Onnis, 2n = 6x = 42)												
20	Denti de cani C.P.		0,3	0,0	0,0	0,1	0,0	0,4	0,2	0,0	0,2	0,0
tritordeum ( <i>X Tritordeum</i> Ascherson et Graebner, 2n = 6x = 42, H <sup>ch</sup> H <sup>ch</sup> BBAA)												
21	HTC 1323DH		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,1	0,0
22	HTC 1331aDH		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
23	HTC 1331bDH		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,1	0,0
24	HTC 1331cDH		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,1	0,0
25	HT 135aDH		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,1	0,0
26	HT 135bDH		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5
27	HTC 2060		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,1	0,0
28	HTC 2071		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,2	0,0
29	HTC 2083		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,2	0,1	0,0
30	HTC 2084		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2	0,0	0,1	0,0
	průměr		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1
celkový průměr			3,2	1,5	0,3	1,7	0,0	3,3	5,6	1,3	3,4	0,8

Zjištění, že tritordeum je výrazně odolné k braničnatce, uvádějí Martín et al. (1999) a Rubiales et al. (2000). Rovněž všechny dosud známé formy *H. chilense* jsou rezistentní k braničnatce, a tato skutečnost vedla ke studiu zaměřenému na lokalizaci příslušných genů. Pro tento účel byly vytvořeny adiční a substituční linie, které byly odvozeny křížením tritordea s monosomiky odrůdy Chinese Spring. Tyto byly pěstovány v klimatizovaných



komorách a polních pokusech k určení, který z chromosomů *H. chilense* nese geny odolnosti. Bylo zjištěno, že rezistence je podmíněna geny na chromosomu 4H<sup>ch</sup> a geny s malou účinností na chromozomech 5H<sup>ch</sup>, 6H<sup>ch</sup> a 7H<sup>ch</sup> (Rubiales et al., 2000). Uvádí se, že všechny dosud známé vzorky *H. chilense* nesou nehostitelské typy rezistence ke rzím ječmene, pšenice, žita a ovsu, braničnatce, sněti mazlavé a sněti prašné a že mají rovněž vysoký stupeň odolnosti k padlí a rzi travní. Bohužel u tritordea se tyto typy rezistencí nemusí vždy projevit (Rubiales et al., 2004).

Význam syntetických pšeníc spočívá v tom, že jsou prostředníkem pro přenos vlastností z planých forem *Ae. tauschii* do běžné hexaploidní pšenice. Dokumentuje to skutečnost, že v Mexiku je v současnosti již 25 % odrůd s geny přenesenými z *Ae. tauschii* a že se začínají objevovat odrůdy pšenice na podobném základu i v Evropě. Gen rezistence *Stb5*, nalezený na krátkém ramenu chromosomu 7D<sup>t</sup> (pocházející od *Ae. tauschii*), byl nalezen rovněž v syntetické pšenici 'Synthetic 6x' (Arraiano et al., 2001).

Netradiční obiloviny, které byly zařazeny v tomto pokusu, jsou křížitelné s běžnou pšenicí. Samotné se nedají většinou zemědělsky využívat vzhledem k některým jejich negativním vlastnostem. Bylo by možné je využít pro přenos genů rezistence do pšenice seté.

### Závěry

- Nejúčinnějšími izoláty použitými pro umělou infekci jsou č. 1 /Alibaba, Hadačka u Kralovic, Plzeň 1. list, S1(9); CRI 0361, 12.5.2008/ a č.5 /Bardotka, 2008, Kuřim, Čejkovice, Pastviska, B5.S2(1); CRI 0323, 5.5.09/.
- Byla nalezena vysoká úroveň rezistence u tritordea, syntetické pšenice CIGM93.266 a haynaldotikum Denti de cani C. P. Může se jednat o potenciální donory rezistence využitelné ve šlechtění, které je potřeba prověřit dalšími pokusy.

### Acknowledgement

Děkujeme profesoru Antoniu Martínovi (CSIRO, Cordoba), Dr. Maartenu van Ginkelovi (CIMMYT Mexico) a profesoru Paolo Meletti (Univ of Pisa, Italy) za poskytnutí vzorků pro experimentální účely. Práce byla podpořena projektem Ministerstva zemědělství České republiky, projektem NAZV: QH81284.

### Literatura

- Aaiano L.S., Worland A.J., Ellerbrook C., Brown J.K. . (2001): Chromosomal location of a gene for resistance to septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in the hexaploid wheat 'Synthetic 6x'. *Theor Appl Genet*, 103, 758-764.
- Chartrain L., Brading P.A., Makepeace J.C., Brown J.K. . (2004): Sources of resistance to septoria tritici blotch and implications for wheat breeding. *Plant Pathology* 53, 454-460.
- Martín A., Alvarez J. B., Martín L. M., Barro F., Ballesteros J. (1999): The development of tritordeum: a novel cereal for food processing. *Journal of Cereal Science*, 30 (2): 85-95.
- Martín A., Chapman V. (1977): A hybrid between *Hordeum chilense* and *Triticum aestivum*. *Cereal Research Communications*, 26 (5), 365-268.
- Meletti P., Onnis A. Stefani A. (1977): *Haynaldoticum sardoum* Meletti et Onnis e la sua origine. *G. Bot. Ital.* III, 376.
- Meletti P., Sbrana V., Quattrucci E., Galli V., Caproni E., Corazza L., Balmas V., Stefani A., Bozzini A (1996): Denti de cani (= X *Haynaldoticum sardoum*) spontaneous hexaploid wheat. Agronomic and technological characterization [Sardinia - Tuscany - Calabria - Sicily]. *Sementi Elette (Italy)* 42 (6), 33-41.

- Rubiales D., Niks E.R., Carver T.L.W., Ballesteros J., Martín A (2004): Prospects for exploitation of disease resistance from *Hordeum chilense* in cultivated cereals. *Hereditas*, 135 (2-3), 161-169.
- Rubiales D., Reader R.M., Martín A. (2000): Chromosomal location of resistance to *Septoria tritici* in *Hordeum chilense* determined by the study of chromosomal addition and substitution lines in 'Chinese Spring' wheat. *Euphytica*, 115, 221-224.

## Diagnostika listových chorob biologicky ošetřeného jarního ječmene a ozimé pšenice - Diagnostics of leaf's diseases on biologically treated spring barley and winter wheat

RNDr, Josef Hýsek, CSc.<sup>1</sup>, Ing. Milan Vach, CSc.  
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha - Ruzyně  
<sup>1</sup>e-mail: [hysek@vurv.cz](mailto:hysek@vurv.cz)

### Abstrakt

V polním pokuse ve VÚRV Praze-Ruzyni jsme u jarního ječmene a ozimé pšenice vyhodnotili účinek použití různých forem aplikace vybraných biofungicidů v kombinaci s rozdílnými technologiemi založení porostů na výskyt houbových chorob. Byly použity biofungicidy Supresivit (účinná houba *Trichoderma harzianum*), Trianum P (jiný kmen *Trichoderma harzianum*), Trifender (*Trichoderma asperellum*) a Koni (účinná houba *Coniothyrium minitans*). U jarního ječmene jsme v roce 2009 zaznamenali především helminthosporiázy (*Drechslera teres*), houbu *Alternaria* sp., méně *Helminthosporium sativum*, *Rhynchosporium secalis* a *Pseudocercospora herpotrichoides*. U ozimé pšenice jsme vyhodnotili napadení specifickými houbovými chorobami – *Drechslera tritici-repentis*, *Septoria tritici*, *Alternaria triticina* aj. Po ošetření biofungicidy, zvláště Supresivitem a Trianem P došlo k redukci fytopatogenních hub na povrchu listů ječmene i pšenice o 15-20%. Nejvyšší účinek jsme zaznamenali při aplikaci biofungicidů ve formě moření a postřiku během vegetace na variantách s klasickým zpracováním půdy.

**Klíčová slova:** jarní ječmen; ozimá pšenice; houbové choroby; biofungicidy; rozdílná technologie založení porostů

### Abstract

We evaluated on spring barley and winter wheat the use of different forms of application of chosen biofungicides in the combination with different biotechnologies of the establishment of stands on the occurrence of fungal diseases. We used biofungicides Supresivit (effective fungus *Trichoderma harzianum*), Trianum P (other strain *Trichoderma harzianum*), Trifender (*Trichoderma asperellum*) and Koni (effective fungus *Coniothyrium minitans*). In the year 2009 we found out on spring barley helminthosporioses (*Drechslera teres*), fungus *Alternaria* sp., less *Helminthosporium sativum*, *Rhynchosporium secalis* and *Pseudocercospora herpotrichoides*. On winter wheat we evaluated the infestation of specific fungal diseases – *Drechslera tritici-repentis*, *Septoria tritici*, *Alternaria triticina* etc. After the treatment with biofungicides, namely Supresivit and Trianum P.. The reduction of phytopathogenic fungi on the leaf's surface of barley and wheat the reduction about 15-20% we observed. The highest effect was found out after the application of biofungicides in the form of seed-treatment and the spray during the vegetation on the variant with classic preparation of soil.

**Key words:** spring barley; winter wheat; fungal diseases; biofungicides; different technology of the establishment of stands

## Úvod

Biologická ochrana rostlin je nový směr v rostlinolékařské péči o hospodářsky důležité tržní plodiny. Jde o využití přípravků, založených na bázi antagonistických mikroorganismů působících proti škodlivým fytopatogenním houbám. Při ošetření kulturních plodin těmito biopřípravky dochází k výrazné redukci patogenních hub. Uvedenou redukci lze potvrdit povrchovou analýzou listů jarního ječmene i ozimé pšenice ve srovnání s neošetřenou kontrolou. Biopreparáty byly např. využity v organickém zemědělství spolu s dalšími metodami (termoterapie) při pěstování obilnin (Baturó, 2006).

Obilniny mají v současné době poměrně uniformní spektrum svých houbových patogenů. Např. ozimou pšenici napadá pravidelně houba *Drechslera tritici-repentis* (známé DTR) současně s houbou braničnatkou pšeničnou (*Septoria tritici*). Ta se často vyskytuje v posledních dvaceti letech, dříve spíše převládala braničnatka plevová (*Phaeosphaeria nodorum*, syn. *Septoria nodorum*). V roce 2009 se poměrně silně rozšířila *Alternaria triticina*, která vytvářela typické skvrny na listech. Často se však vyskytovala ve směsi s výše uvedenými houbami. Mnohdy jsou však již napadeny zárodky semene obilnin, zvláště helminthosporii, projevující se již po výsevu.

## Materiál a metody

Na pokusných pozemcích VÚRV Praha-Ruzyně, v.v.i. jsme při rozdílných technologiích založení porostů a aplikace biofungicidů vyhodnotili zdravotní stav jarního ječmene odrůdy Publican a ozimé pšenice odrůdy Cubus.

V polních pokusech jsme použili 4 vybrané biofungicidy - Supresivit, založený na bázi houby *Trichoderma harzianum*, obsahující životaschopné konidie antagonistické houby, jež zabraňuje růstu patogenních hub. Druhým přípravkem je perspektivní biofungicid Trianum P, původem z Holandska, který je založen na podobné bázi jako Supresivit, rozdíl je ale v jiném kmeni houby. Dalšími jsou maďarské přípravky Trifender (účinná houba *Trichoderma asperellum*) a Koni (účinná houba *Coniothyrium minitans*).

Výše uvedené biofungicidy byly aplikovány jednak ve směsi s minerálním hnojivem (síran amonný k jarnímu ječmeni, ledek amonný s vápencem k ozimé pšenici - jako hnojivo fungi), dále jako mořidlo osiva a také postřikem. Bylo tedy použito tří rozdílných způsobů jejich aplikace, tzn., že bylo sledováno působení vybraných biofungicidů ve směsi s minerálním hnojivem, ve druhém případě homogenizovaných přímo s osivem (mořidlo) a ve třetím formou postřiku ve fázi sloupkování. Osivo pro pokusy nebylo uměle infikováno a obsahovalo přirozené „inokulum“ v zárodku semen. Kontrolní osivo bylo pouze mořeno chemickým mořidlem Celest Extra.

Jarní ječmen byl kontrolován na specifické houbové choroby - *Drechslera teres*, *Helminthosporium sativum*, *Pseudocercospora herpotrichoides*, *Alternaria* sp. a další. Ozimá pšenice ošetřená biopreparáty byla pravidelně hodnocena na výskyt specifických houbových chorob: *Drechslera tritici – repentis* (známá DTR), dále na septoriózy – *Septoria tritici* a na výskyt dalších hub (*Alternaria triticina* a další).

Houby na povrchu rostlin byly identifikovány pomocí stěrů z povrchu rostlinných skvrn. Z nich byly připraveny nativní preparáty pozorované pod mikroskopem při zvětšení 400x i vícekrát. Na základě morfologických charakteristik (tvar a velikost konidioforů, tvar i velikost konidií) jsme stanovili jednotlivé rody a druhy hub a jejich zastoupení ve srovnání s neošetřenou kontrolou.

Při založení porostů ozimé pšenice byly použity a následně vyhodnoceny tři rozdílné technologie zpracování půdy (A, B, C):

### Způsob založení porostu:

- A) klasický (konvenční) způsob zpracování půdy a setí
- B) přímé setí do nezpracované půdy
- C) setí do mělce zpracované půdy se zapravenou rozdrčenou slámou předplodiny

### U rostlin obilnin jsme během vegetace sledovali:

#### **Jarní ječmen:**

- a - Celkové napadení listové plochy
- b - Plocha napadená *Drechslera teres*
- c - Plocha napadená *Rhynchosporium secalis*
- d - Plocha napadená *Alternaria* sp.

#### **Ozimá pšenice:**

- a - Celkové napadení listové plochy
- b - Plocha napadená DTR
- c - Plocha napadená *Septoria tritici*
- d - Plocha napadená *Alternaria triticina*

U obou obilnin jsme vyhodnotili u všech tří výše uvedených způsobů založení porostů následující varianty:

1. kontrolní varianta neošetřená biofungicidy, mořeno Celest Extra, hnojení SA (LAV)
2. hnojivo fungi + 1 g Supresivit na 1 kg hnojiva)
3. hnojivo fungi + 1 g Trianum P na 1 kg hnojiva)
4. postřik Supresivit (A + B)
5. postřik Trifender (C + D)
6. postřik Trianum P (A + B)
7. postřik Koni (C + D)
8. osivo + 1 g Supresivit na 1 kg osiva
9. osivo + 1 g Trianum P na 1 kg osiva

### **Výsledky a diskuse**

Fytopatogenní houby z povrchů listů a stébel obou hodnocených obilnin jsou velmi typické morfologií konidioforů, tvarem a velikostí konidií a především typickými příznaky poškození (skvrny a lemování na jejich okrajích). Jejich kvantitativní sledování umožňuje stanovit napadení rostlin ve srovnání s neošetřenou kontrolou a stanovit tak účinek biopreparátů. Biopreparáty byly použity spolu s dalšími metodami (např. termoterapie) v organickém systému zemědělství (Baturo, 2006).

Na kontrolních variantách jarního ječmene se vyskytovaly houby rodu *Drechslera*, zejména *Drechslera teres*, z rodu *Helminthosporium* houba *H. sativum* a také v poměrně značném množství *Alternaria* sp. Rozdíly mezi parcelami kontrolními a ošetřenými biofungicidy nebyly v kvalitativním výskytu, ale v kvantitativním zastoupení fytopatogenních hub. Ze získaných výsledků je zcela zřejmé, že biopreparáty omezovaly výskyt jednotlivých druhů těchto patogenních hub. Kvantitativní rozdíly jsou těžko vyhodnotitelné, pokusili jsme se o to pomocí stanovení napadení plochy listů u jednotlivých variant (celkové napadení, listové plochy, napadení *Drechslera teres*, *Rhynchosporium secalis* a *Alternaria* sp.). V tab. 1 je znázorněno vyhodnocení všech variant pokusu ve srovnání s kontrolní neošetřenou variantou.

Tab.1. Hodnocení všech variant biologického pokusu s jarním ječmenem odrůdy Publican v procentech průměrné plochy napadení listu (%).

Varianta	A				B				C			
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
1. kontrolní varianta	50	25	15	40	40	20	10	25	45	25	20	35
2. hnojivo SA +Supresivit	25	10	10	20	20	10	7	15	25	12	10	14
3. hnojivo SA+Trianum.P	20	8	8	18	18	8	5	12	22	10	8	12
4. postřik Supresivit	23	10	10	18	18	10	7	13	22	10	10	12
5. postřik Trifender	27	12	13	23	24	13	8	18	27	14	12	16
6. postřik Trianum P	22	8	7	18	19	8	8	13	22	10	9	12
7. postřik Koni	28	13	13	24	24	12	9	19	28	15	11	11
8. osivo + Supresivit	26	11	11	21	21	11	8	16	26	13	11	15
9. osivo + Trianum P	24	9	9	19	19	9	6	13	23	11	9	13

Z Tab.1 je patrné, že napadení listové plochy jarního ječmene kolísalo vlivem aplikace biopreparátů, ale i vlivem rozdílného zpracování půdy a založení porostů. Při hodnocení účinku jednotlivých biofungicidů se ukázalo, že nejmenší napadení fytopatogenními houbami bylo pozorováno na variantě ošetřené biologickým přípravkem Trianum P při klasickém zpracování půdy (A). Napadení povrchu fytopatogenními houbami bylo sníženo přibližně o 20% ve srovnání s neošetřenou kontrolou. Účinné bylo zvláště moření osiva a také postřik jednotlivými biopreparáty.

Na základě podrobné analýzy listů jsme také u ozimé pšenice kvantitativně vyhodnotili všechny varianty polního pokusu na výskyt houbových patogenů. V letošním roce 2009 jsme na pšenici zaznamenali zvláště fytopatogenní houby *Drechslera tritici-repentis*, *Septoria tritici* a *Alternaria triticina*. Zvláště efektivní a přínosný se ukazuje postřik jednotlivými biopreparáty (var. 4-7), který zabraňuje většímu šíření a rozvoji fytopatogenních hub na listech (viz Tab.2)

Tab.2. Hodnocení všech variant biologického pokusu s ozimou pšenicí odrůdy Cubus v procentech průměrné plochy napadení listu.

Varianta	A				B				C			
	a	b	c	d	A	b	c	d	a	b	c	d
1. kontrolní varianta	55	35	20	45	45	25	15	30	45	35	25	35
2. hnojivo SA +Supresivit	25	10	9	15	25	11	9	16	24	21	9	23
3. hnojivo SA+Trianum.P	24	9	8	14	23	9	8	15	22	20	8	22
4. postřik Supresivit	26	11	10	13	22	10	8	15	23	20	8	22
5. postřik Trifender	28	29	15	19	29	18	17	20	27	24	15	16
6. postřik Trianum P	25	9	9	14	24	10	8	15	23	20	8	21
7. postřik Koni	28	27	18	15	22	12	15	18	25	20	15	25
8. osivo + Supresivit	24	12	11	14	23	9	8	17	25	22	10	22
9. osivo + Trianum P	24	10	8	12	22	8	7	14	20	19	9	23

Z naší práce vyplývá, že ošetření biofungicidy mělo výrazný pozitivní vliv na omezení listové plochy napadené fytopatogenními houbami. Tyto přípravky působily antagonisticky proti významným patogenním houbám jarního ječmene i ozimé pšenice, v důsledku čehož jsme zaznamenali podstatně nižší napadení obou obilnin. Z hlediska založení porostů jsme podle předpokladu zjistili nejvyšší napadení rostlin na variantách s nezpracovanou půdou,

menší na variantách s mělce zapravenou slámou a nejnižší na variantách s klasickou přípravou půdy. Pro zemědělskou praxi je nejdůležitějším přínosem společné aplikace biofungicidů s minerálními hnojivy, s osivem nebo ve formě postřiku potlačení významných fytopatogenních hub a následné udržení dobrého zdravotního stavu porostů obilnin.

### **Acknowledgement**

Tento příspěvek byl finančně podpořen výzkumným záměrem MZe ČR 0002700604

### **Literatura**

Baturo A., 2006: Effect of thermotherapy, grain treatment and leaf spraying with biological control agents on spring barley (*Hordeum vulgare*) health in organic system. *Phytopatol. Pol.* 41, 15-26.

### **Legenda k fotografiím:**

Obr. 1. Napadení listů houbovými původci listových skvrnitostí ječmene (foto: prof. K. Veverka).



Obr. 2. Napadení listů ozimé pšenice houbami *Septoria tritici* a *Alternaria triticina* (foto: prof.Veverka).





# Virulence izolátů braničnatky pšeničné (*Mycosphaerella graminicola*) k odrůdám pšenice. - Virulence septoria tritici blotch isolates (*Mycosphaerella graminicola*) to wheat cultivars.

Lubomír Věchet<sup>1</sup>, Eva Vydrová<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha - Ruzyně

<sup>2</sup> Česká zemědělská univerzita, Praha - Suchbátka

<sup>1</sup>e-mail: [vechet@vurv.cz](mailto:vechet@vurv.cz)

## Abstrakt

Testy na reakci odrůd pšenice se specifickými geny rezistence k *M. graminicola* ukázaly širokou variabilitu ve virulenci použitých izolátů. Některý izolát vyvolal náchylné reakce u všech odrůd, jiný specifickou rezistenci k určitému genu. Byla zjištěna odlišnost ve virulenci izolátů z jedné skvrny braničnatky k testovacímu sortimentu odrůd. Nejmenší počet případů virulence jednotlivých izolátů byl zjištěn k odrůdě Israel493 se specifickým genem rezistence *Stb3*.

**Klíčová slova:** pšenice; braničnatka pšeničná; virulence izolát; specifické geny rezistence

## Abstract

Tests for reaction of wheat cultivars with specific genes of resistance indicated a broad variability in virulence of used isolates. Some isolate elicited susceptible reaction in all cultivars, other specific resistance to concrete genus. Variability in virulence was ascertained in isolates from the one blotch. The most little a number of cases in isolate virulence was found out to the cultivar Israel493 with specific genus of resistance *Stb3*.

**Key words:** wheat; septoria tritici blotch; virulence of isolate; specific genes of resistance

## Úvod

Septoriová skvrnitost pšenice je způsobená houbou *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) J. Schröt. In Cohn (anamorph: *Septoria tritici* Roberge in Desmaz.) je významnou chorobou chlebové a tvrdé pšenice v oblastech s častými srážkami a středními teplotami. Rezistence pšenice k braničnatce pšeničné je obtížný jev, závislý na podmínkách vnějšího prostředí Shaw & Royle 1993). U *M. graminicola* byly zjištěna vysoká variabilita ve virulenci izolátů získaných z různých odrůd, odlišných stanovišť a dokonce i izolátů získaných z jedné skvrny. Arama, et al. (2000) testovali šestnáct izolátů *S. tritici* (*M. graminicola*), sebraných z různých geografických lokalit na 43 odrůdách pšenice ve stádiu semenáčů v růstové místnosti. Interakce mezi odrůdami a izoláty byly vysoce významné. Některé izoláty sebrané z téže lokality se odlišovaly ve virulenci.

Předmětem této studie bylo zjistit rezistenci testovacího sortimentu odrůd pšenice se specifickými geny rezistence a virulenci izolátů *M. graminicola*.

## Materiál a metody

Pokusy byly provedeny na listových segmentech (Arraiano et al. 2001) prvního listu 14 dnů starých semenáčů pšenice, ve čtyřech opakováních. V pokusech bylo zařazeno 6 odrůd pšenice s odlišnými specifickými geny rezistence (Tab. 1) a jako kontrolní odrůda Galaxie. Izoláty patogena byly získány z různých odrůd tak, že skvrna braničnatky byla povrchově sterilizována v 0.6% sodium hypochlorite po dobu 2 min. a list na podložním sklíčku byl

uložen na vlhký filtrační papír v Petriho misce a inkubován po dobu 24 hod. při 20°C a 16 hod. světelné periodě. Sorusy z pyknid, jako monosporové izoláty, byly pak přeneseny sterilní jehlou na bramboro-dextrózový agar (PDA). K testům bylo použito 10 izolátů braničnatky pšeničné, které byly pěstovány při teplotě 16°C. Suspenze spor izolátu byla připravena ze sporulujících izolátů pěstovaných na agaru. Malé kousky počínajících kolonií byly sterilně přeneseny do kvasnično-glukózového média a na reciproké třepače třepány při teplotě 17°C po dobu 5 dnů. K infekci semenáčů pšenice byla použita koncentrace spor 10<sup>-6</sup>. První listy z postříkaných rostlin byly po uschnutí segmentovány na délku 3cm a vkládány do plexisklových boxů s vodním benzimidazolovým agarem. Kultivace probíhala v klimatizovaných boxech při 20°C. Odečet závažnosti choroby, jako procento povrchu pokrytého příznaky choroby, byl prováděn 21 dni od doby infekce ve třech časových intervalech. Virulence izolátů podle Arama et al. (2000) byla určena jako třídy odvozené z průměrů procenta pokrytí listové plochy segmentů nekrotickými braničnatky pšeničné s pyknidami: R - rezistentní (0-20% nekrotické plochy); SR - středně rezistentní (21-40% nekrotické plochy); N – náchylná (>40% nekrotické plochy).

## Výsledky

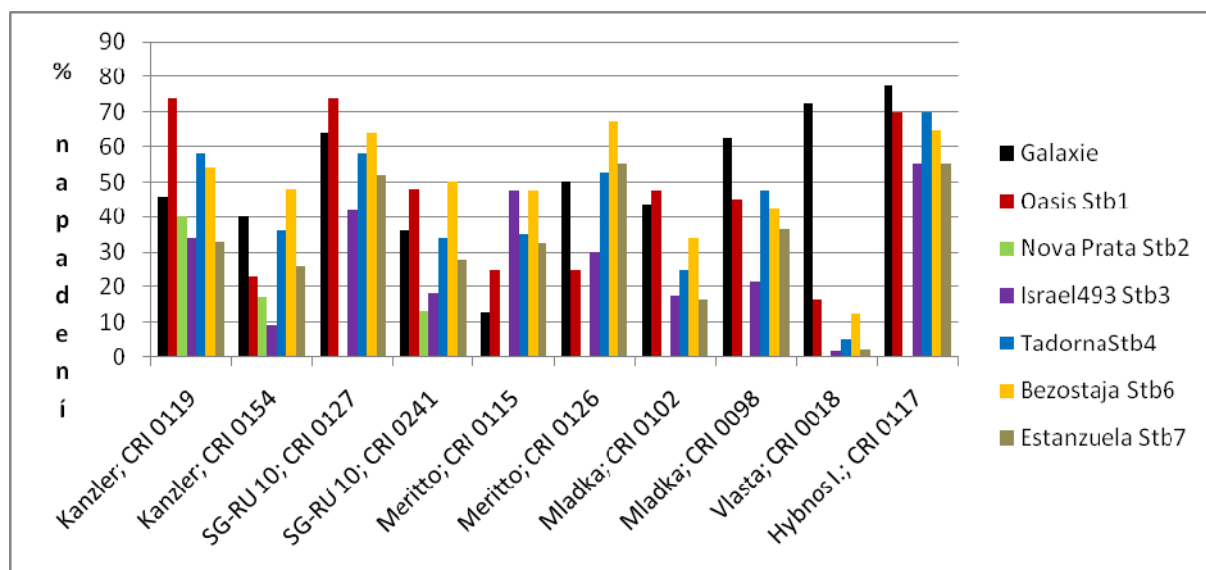
Tab. 1. Odrůdy pšenice se specifickými geny rezistence k *M. graminicola*.

Testovací sortiment odrůd pšenice	Geny rezistence
Oasis	<i>Stb1</i>
Nova Prata	<i>Stb2</i>
Israel493	<i>Stb3</i>
Tadorna	<i>Stb4</i>
Bezostaja	<i>Stb6</i>
Estanzuela	<i>Stb7</i>

Tab. 2. Charakteristika použitých izolátů *Mycosphaerella graminicola*.

Odrůda	Číslo ve sbírce izolátů CRI	Rok sběru	Původ	Charakteristika (pořadí listu shora, označení rostliny, číslo skvrny, číslo pyknidy)
Kanzler	0119	2007	VÚRV	1.list, V6, S1(5)
Kanzler	0154	2007	VÚRV	2.list, V7, S1(4)
SG-RU 10	0127	2006	VÚRV	S1(2)
SG-RU 10	0241	2006	VÚRV	S2(6)
Meritto	0115	2007	Jehnědí, Ústí n. Orlicí	1.list, S1(1)
Meritto	0126	2007	Jehnědí, Ústí n. Orlicí	1.list, S1(9)
Mladka	0102	2007	Hadačka u Kralovic, Plzeň	2.list, S1(6)
Mladka	0098	2007	Hadačka u Kralovic, Plzeň	2.list, S1(8)
Vlasta	0018	2006	Hadačka u Kralovic, Plzeň	1.list, S1(3)
Hybnos I.	0117	2007	Tisová, Ústí n. Orlicí	S1(17)

Graf 1. Reakce izolátů bráničnatky pšeničné (*Mycosphaerella graminicola*) k testovacímu sortimentu pšenice se specifickými geny rezistence.



Rozdíly ve výskytu závažností napadení mezi jednotlivými reakcemi izolátů *M. graminicola* k testovacímu sortimentu odrůd pšenice byly velké (Graf.1). Silnou virulenci ukázal izolát Kanzler, 2007, VÚRV, 1.list, V6, S1(5); CRI 0119, kde všechny testované odrůdy byly k tomuto izolátu náchylné, kromě Israel493 a Estanzuela, které byly středně rezistentní. K izolátu Kanzler, 2007, VÚRV, 2.list, V7, S1(4); CRI 0154 byly náchylné odrůdy Bezostaja, Galaxie, středně rezistentní Tadorna, Estanzuela a Oasis a rezistentní byla Nova Prata a Israel 493. K izolátu SG-RU 10, 2006, VÚRV, S1(2), CRI 0127 byly náchylné všechny testované odrůdy. K izolátu SG-RU 10, 2006, VÚRV, S2(6); CRI 0241 byly náchylné odrůdy Bezostaja a Oasis, středně rezistentní byly Galaxie, Tadorna, Estanzuela a rezistentní byly odrůdy Israel493 a Nova Prata. K izolátu Meritto, 2007, Jehnědí, Ústí n. Orlicí, 1.list, S1(1); CRI 0115 byly náchylné Israel493 a Bezostaja, středně náchylné Tadorna, Estanzuela a Oasis, rezistentní byla Galaxie. K izolátu Meritto, 2007, Jehnědí, Ústí n. Orlicí, 1.list, S1(9); CRI 0126 byly náchylné Bezostaja, Estanzuela, Tadorna a Galaxie, středně rezistentní byly Israel493 a Oasis. K izolátu Mladka, 2007, Hadačka u Kralovic, Plzeň, 2.list, S1(6); CRI 0126 byl náchylné Galaxie a Oasis, středně rezistentní byly odrůdy Bezostaja a Tadorna, rezistentní byl Israel493. K izolátu Mladaka, 2007, Hadačka u Kralovic, Plzeň, 2.list, S1(8); CRI 0098 byly náchylné Galaxie, Tadorna, Bezostaja a Estanzuela a středně rezistentní byl Israel493. K izolátu Vlasta, 2006, Hadačka u Kralovic, Plzeň, 1.list, S1(3); CRI 0018 byla náchylná pouze Galaxie a statní odrůdy byly rezistentní, z toho silně rezistentní byly Israel493 a Tadorna. K izolátu Hybnos I., 2007, Tisová, Ústí n. Orlicí, S1(7); CRI 0117 byly všechny odrůd náchylné.

## Diskuse

Z výsledků je zřejmá značná variability izolátů *M. graminicola* ve virulenci k testovacímu sortimentu odrůd. Některé izoláty Kanzler; CRI 0119 a Hybnos I.; CRI 0117 byly silně virulentní a vyvolaly náchylnou reakci testovaných odrůd pšenice. Ani jeden použitý specifický gen rezistence nevyvolal rezistentní nebo středně rezistentní reakci k tomuto izolátu. Byly také nalezeny značné rozdíly ve virulenci izolátů získaných z jedné skvrny bráničnatky pšeničné a to z Kanzler CRI 0119 a 0154, Meritto CRI 0115 a 0126, Mladka CRI 0102 a 0098. Linde et al. (2002) zjistili, že každá skvrna *M. graminicola* má od dvou do šesti odlišných patotypů. Nejvíce náchylnou odrůdou k většině izolátů byla Galaxie, kromě

izolátu Meritto, CRI 0115. Většina odrůd byla rezistentní nebo středně rezistentní k izolátu Israel493 s genem rezistence *Stb3*. Pouze k izolátu Meritto CRI 0115 byla tato odrůda náchylná. Je zřejmé, že i když odrůda se specifickou rezistencí je k většině izolátů *M. graminicola* rezistentní, vyskytne se v populaci patogena patotyp, který je schopen tuto rezistenci překonat. Jiná odrůda Bezostaja, se specifickým genem rezistence *Stb 6*, byla naopak k většině izolátů, kromě Vlasta CRI 0018 a Mladka CRI 0102, náchylná. Pravděpodobně v této populaci patogena a v této oblasti převládala virulence k tomuto genu rezistence.

Dosud bylo identifikováno a mapováno 12 major genů rezistence k *M. graminicola* (Arriano a Brown, 2006). V přirozených podmínkách jsou však běžné genotypově směsné infekce, které mohou hrát důležitou úlohu ve vývoji virulence (Schürch a Roy, 2004). Znalost genetické struktury populace může tak hrát klíčovou úlohu ve smyslu řídit tohoto patogena, v pochopení jeho epidemiologie a vývojového potenciálu (Kabbage et al., 2008).

### Acknowledgement

Tato práce byla finančně podporována projektem agentury NAZV číslo QH81284.

### Literatura

- Arama P.F., Parlevliet J.E., & van Silfhout C.H. (2000). Variation in virulence patterns of *Septoria tritici* on *Triticum aestivum* in Kenya. *African Crop Science Journal*, 8, 3, 301 - 309.
- Arriano L.S, Brading P.A., & Brown J.K.M. (2001). A detached seedling leaf technique to study resistance to *Mycosphaerella graminicola* (anamorph *Septoria tritici*) in wheat. *Plant Pathology*, 50, 339 - 346.
- Arriano L.S, & Brown J.K.M. (2006). Identification of isolate-specific and partial resistance to septoria tritici blotch in 238 European wheat cultivars and breeding lines. *Plant Pathology*, 55, 726 - 738.
- Kabbage M., Leslie J.F., Zeller K.A, Hulbert S.H., Bockus W.W. (2008): Genetic diversity of *Mycosphaerella graminicola*, the causal agent of Septoria tritici blotch, in Knasas winter wheat. *Agricultural, Food, and Environmental Sciences*, 2, 1, 1-9.
- Linde C.C, Zhan, J., McDonald, B.A. (2002). Population structure of *Mycosphaerella graminicola*: from lesions to continents. *Phytopathology*, 92, 2, 946 - 955.
- Shaw M.W., Royle D.J. (1993): Factors determining the severity of epidemics of *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*) on winter wheat in the UK. *Plant Pathology*, 42, 882-899.
- Schurch S., Roy B.A. (2004): Comparing single- vs. mixed-genotype infections of *Mycosphaerella graminicola* on wheat: effects on pathogen virulence and host tolerance. *Evolutionary Ecology*, 18, 1-14.

# Molekulární markery rezistence vůči *Mycosphaerella graminicola* - Molecular markers of resistance to *Mycosphaerella graminicola*

Ing. Jana Drabešová

Katedra ochrany rostlin, FAPPZ, ČZU, Praha - Suchdol

e-mail: [drabesova@af.czu.cz](mailto:drabesova@af.czu.cz)

## Abstrakt

*Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) J. Schröt. 1984 (anamorfa *Septoria tritici* Roberge) je v současné době řazena mezi velmi významné listové patogeny pšenice v mnoha zemích světa včetně v České republice. Časté srážky a středoevropské klima jsou velmi příznivé pro vývoj choroby - bráničnatky pšeničné (pyknidiální listová skvrnitost). Publikované ztráty na výnosech se pohybují od 25 % do 50 %. Vztah hostitelské rostliny a patogena odpovídá vztahu gen proti genu, neboli monogenní rezistenci. Vnášení genů rezistence k *M. graminicola* do pšenice se zatím ukázalo jako ekonomicky a ekologicky nejvýhodnější řešení regulace této choroby. Aplikace molekulárních markerů přispívá k zvýšení produktivity při tvorbě nových rezistentních odrůd. Cílem této práce bylo využít mikrosatelitní markery pro hledání zdrojů rezistence proti *M. graminicola*, jimiž jsou geny rezistence *Stb*, mezi českými odrůdami pšenice. DNA byla izolována z listů pšenice pomocí fenol chloroformové metody a analýza mikrosatelitních markerů byla provedena dle publikovaných markerů pomocí PCR. Následně byly amplifikované produkty separovány pomocí polyakrylamidové elektroforézy a značeny etidium bromidem. Bylo analyzováno dvacet šest odrůd pšenice. Použity byly mikrosatelitní markery pro osm popsáných genů rezistence (*Stb1* – *Stb8*). V některých případech se délky amplifikovaných produktů lišily od predikované délky fragmentů. V tomto případě nebylo možné gen rezistence přesně detekovat. Důvodem je zřejmě odlišný původ genetického materiálu. Pšenice použité v publikovaných pracích pocházejí zpravidla z USA, Anglie a Holandska, jde tedy o zcela odlišný materiál, než byl použit v této práci.

**Klíčová slova.** *M. graminicola*; pšenice; molekulární markery; DNA;

## Abstrakt

*Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) J. Schröt. 1984 (anamorfa *Septoria tritici* Roberge) is currently the most important foliar pathogen of wheat in many regions of the world including the Czech Republic. Frequent rainfall and central Europe climate are favorable for disease development (*Septoria tritici* blotch). Yield losses ranging from 25 % to 50 % have been reported. Specific interactions between host-plant and pathogen organism respond to gen-for-gen relation (monogenetic resistance). The resistant cultivars provide economical effective and environmental way to protect wheat from STB. The molecular markers application contributes to improve of breeding productivity during process of new wheat varieties production. Aim of this work was the microsatellite markers (SSRs) application for searching sources of resistance to *M. graminicola* (*Stb* genes) in the group of Czech wheat varieties. DNA from wheat leaves was extracted using fenol-chloforom method and microsatellite analysis was performed by PCR (using published markers). Consequently, all amplified products have been separated in ethidium bromide stained polyacrylamide gel. Twenty-six varieties of wheat have been analyzed. Microsatellite markers for eight resistance genes (*Stb1* – *Stb8*) have been used. Predicted length of amplified fragments was different from our amplified fragments in some cases. In this case it was not possible to detect resistance genes. The different types of genetic material seem to be a reason for malfunction of used markers.

The origin of wheat used in published works mostly originated from USA, UK and Netherlands and it could be quite different from the wheat used in this work.

**Key words:** *M. graminicola*; wheat; molecular markers; DNA

## Úvod

Braničnatka pšeničná je jednou z nejvážnějších chorob pšenice na světě a to zvláště v posledních patnácti až pětadvaceti letech. Její původce *Mycosphaerella graminicola* (anamorfa *Septoria tritici*) způsobuje závažné ztráty na výnosech ve všech oblastech pěstování pšenice (Věchet, 2007). V severní Evropě se stala jednou z nejvýznamnějších chorob (van Ginkel *et al.*, 1999). Nedávný vznik rezistence braničnatky pšeničné ke strobolorinovým fungicidům (Fraaije *et al.*, 2005) zvýšil zájem o šlechtění a pěstování kultivarů rezistentních k *M. graminicola*, jako nejlevnějšího prostředku ochrany proti této chorobě. Evropskými šlechtiteli pšenice je nyní rezistence považována za jedno z hlavních kritérií při selekci nových odrůd. Porozumění genetiky onemocnění je základem pro efektivní šlechtění na rezistenci (Arraiano *et al.*, 2007).

Výsledky McCartneyho *et al.* (2000) pokusů dokazují, že rezistence k *M. graminicola* je kvalitativní a je řízena neúplně dominantními geny. Počet genů rezistence štěpících se při křížení závisí na zdroji rezistence a rase použité k testování na reakci s *M. graminicola*.

V Brandingových *et al.*, (2002) sazenicových pokusech i v polních podmínkách se vyskytovaly specifické interakce mezi odrůdami a izoláty *M. graminicola*. To zvýšilo pravděpodobnost, že tyto specifické interakce fungují na základě mechanismu gen proti genu, ve kterém je pro každý gen řídící rezistenci v hostiteli odpovídající gen pro avirulenci v patogenu. Nejvíce prostudovaná specifická interakce je mezi izolátem IPO323 z Holandska a několika kultivary pšenice s odlišným původem (Brading *et al.*, 2002).

V posledních letech bylo nalezeno a zmapováno 15 rezistentních major genů, pojmenovány byly *Stb1* – *Stb15* (Somasco *et al.*, 1996, Arraiano *et al.*, 2001; Brading *et al.*, 2002; Adhikari *et al.*, 2003; McCartney *et al.* 2003; Adhikari *et al.* 2004a,b,c; Chartrain, 2004; Chartrain *et al.*, 2005a, b; Cowling *et al.*, 2006; Arraiano *et al.*, 2007). *Stb1*, *Stb2* a *Stb3* byly objeveny na odrůdách Bulgaria 88, Veranopolis a Izrael (v tomto pořadí) za použití přírodní infekce, patrně způsobené směsí několika genotypů patogenu. *Stb4-8* byly objeveny v odrůdách Tadinia, Synthetix6x, Flame, Estanzuela Federal a syntetické hexaploidní pšenci W7984 za použití definovaného izolátu *M. graminicola* (Chartain *et al.*, 2004). Tři specifické geny rezistence, *Stb10*, *Stb11*, *Stb12*, byly zmapovány za použití QTL (quantitative trait locus) analýzy (Chartrain *et al.*, 2005a,b).

Jako u jiných chorob nemusí být rezistence k STB trvalá. Populace *M. graminicola* je geneticky velice rozmanitá a může se sexuálně rozmnožovat několikrát během vegetační doby pšenice. To zvyšuje riziko adaptace patogenu k rezistentním genům rozmístěným v hostitelské populaci (Chartain *et al.*, 2004). Gen *Stb1* z ozimé odrůdy pšenice Bulgaria 88 vnesený do indické měkké červené ozimé odrůdy Oasis a Sullivan si zachoval efektivnost více než 25 let. Ale například ve státě Oregon se odrůda Gene, která obsahovala gen *Stb4*, stala vysoce citlivou 5 let po uvedení na trh. S takto rychlým poklesem rezistence vzniká potřeba začlenění dalších genů rezistence do odrůd pšenice určených pro produkci v oblastech ohrožených STB (Adhikari *et al.*, 2003).

Molekulární markery přispěly ke zlepšení šlechtitelské strategie pro geny monogenní rezistence, kdy jejich kombinací ve strategii „genové pyramidy“ vzniká trvanlivější rezistence. Dále také umožnili izolaci prvních genů rezistence k chorobám. Klonování takovýchto genů z kulturních plodin a jejich planých příbuzných otevírá nové možnosti pro jejich dlouhodobé využití při šlechtění (Slusarenko *et al.*, 2002). V genomu všech eukaryot je

obsažena skupina sekvencí, nazývané mikrosatelity nebo také SSRs (simple sequence repeats). S několikrát za sebou se opakujícím základním motivem <6 bp, se mikrosatelity projeví jako důležitý zdroj všudypřítomných genetických markerů v mnoho eukariotních geomech včetně rostlin (Röder *et al.*, 1998).

## **Materiál a metody**

Pro analýzu přítomnosti genů rezistence byly použity segmenty listů z rostlin pšenice získané z VÚRV Praha - Ruzyně, kde byly vypěstovány ve skleníku, ve standardních podmínkách z osiva dodaného z tamější genové banky. (Tab 1.)

Pro srovnání byla DNA vyizolována i z rostlin které nesou dané geny rezistence a jejichž osivo také pocházelo z genové banky VÚRV Praha – Ruzyně. Tyto rostliny byly vypěstovány ve fytotronu na katedře ochrany rostlin za standardních podmínek. Pro gen *Stb8* se nám nepodařilo získat osivo kontrolní rostliny.

Izolace DNA byla provedena pomocí fenol chloroformové extrakce; metoda je popsána v publikaci Analýza rostlinného genomu (Vejl a kol., 2002).

Vhodnost izolované DNA pro PCR amplifikaci byla otestována pomocí univerzálních ribulose-1,5-biphosphate carboxylase (RuBisCO, *rbcL*) primerů pro detekci rostlinné DNA (sekvence primerů: *rbcL* F1F – ATGTCACCACAAACAGAACTAAAGCAAGT; *rbcL* F1379R – TCACAAGCAGCAGCTAGTTCAGGACTC; teplota annealingu: 55°C). Amplifikované fragmenty byly vizualizovány na 1% agarózové elektroforéze a délka fragmentů odpovídala 1500 bp (srovnáváno s DNA markerem MassRuler, Low Range, Fermentas).

Pro amplifikaci DNA byla použita metoda PCR. Primery byly navrženy podle již publikovaných primerů pro geny *Stb1-8* (Arraiano *et al.*, 2001; Adhikari *et al.*, 2003; Brading *et al.*, 2002; McCartney *et al.*, 2003; Adhikari *et al.*, 2004a, b, c) a byly nasyntetizovány firmou Sigma Aldrich.

Složení jedné PCR reakce: ddH<sub>2</sub>O – 17,85μl; Taq pufr – 2,5 μl; MgCl<sub>2</sub> – 2,5 μl; dNTP – 0,25μl; primer mix – 0,4 μl; Taq polymeráza (5U/μl) – 0,2μl; DNA vzorku – 1μl.

Program, který byl použit pro PCR reakci s primery markerů genů *Stb1-8* měl tyto kroky: 94°C - 3 minuty; 94°C - 45 sekund; 60°C (55°C, 50°C) - 30 sekund (teplota annealingu se lišila podle použitých primerů); 72°C - 45 sekund; kroky 2.-5. zopakovány 44 krát; 72°C - 7 minut; 4°C for ever (do vyjmutí vzorků).

Po ukončení programu termocykleru byly vzorky vyjmuty a uskladněny v mrazicím boxu, nebo byly ihned použity pro separaci na elektroforéze. Všechny vzorky byly před nanesením na gel smíchány s nanášecí barvou.

Pro separaci amplifikovaných fragmentů byla použita 3% agarózové horizontální elektroforéza a 5% vertikální polyakrylamidová elektroforéza v 1x TBE pufru. U agarózové elektroforézy byla doba separace 3 hodiny při napětí 60V, u polyakrylamidové elektroforézy pak 1 hodinu při napětí 70V. Obě metody jsou popsány v publikaci Gel electrophoresis of nucleic acids: a practical approach (Rickwood, Hames, 1990).

Ke značení separovaných fragmentů v gelu byl v obou případech použit ethidium bromid, který se do agarózového gelu přidával při přípravě a polyakrylamidový gel se jím barvil v roztoku po separaci (koncentrace ethidium bromidu byla 0,5 μl na 1 ml gelu/roztoku).

Obarvený gel byl umístěn na UV transiluminátor, kde byl ozářen UV zářením o vlnové délce 280 nm a byla pořízena fotodokumentace za použití programu GeneSnap (Syngene).

Výsledné velikosti amplifikovaných fragmentů byly porovnány s DNA markerem O'range Ruler 20bp, Fermentas.

## **Výsledky a diskuse**

Metoda izolace DNA fenol-chloroformovou extrakcí a zhodnocení její kvality pomocí PCR (rbcL primery) se ukázala pro daný materiál vhodná, fragmenty amplifikované při reakci byly na agarózovém gelu dobře viditelné a v odpovídající velikosti (1500bp), (Obr. 1). Tímto způsobem jsme získali 26 vzorků DNA z testovaných odrůd a 6 vzorků DNA kontrolních rostlin. K vizualizaci PCR fragmentů byla nejprve použita doporučená horizontální agarózová elektroforéza, ale vzhledem k velikosti výsledných produktů (100-200bp) a jejich rozdílů na úrovni cca 20bp byly výsledky špatně rozlišitelné (Obr. 2). Proto bylo přistoupeno k použití vertikální polyakrylamidové elektroforézy, která má větší rozlišovací schopnosti; její použití je, zvláště při barvení ethidium bromidem, také méně časově náročné.

Délky výsledných produktů se většinou lišily od délek predikovaných autory prací a to i u kontrolních rostlin, u kterých byl daný gen prokázán. V některých případech se úseky DNA vyskytovaly ve vzdálenosti uváděné autory, ale posunuté o několik bází výše nebo níže. U některých markerů se popisované úseky neamplifikovali vůbec.

Například u genu *Stb1* : Délka výsledného produktu u rezistentní rostliny by měla být 188bp. U citlivé rostliny pak 175bp. U kontrolních rostlin se takto velké úseky nacházejí, avšak nacházejí se zde i jiné výraznější úseky. U rostlin testovaných můžeme pozorovat stejný motiv jako u rostlin kontrolních, u některých vzorků ale například posunutý o dvacet párů bází nahoru nebo dolů, takže nelze jednoznačně říci, zda je testovaná rostlina rezistentní nebo citlivá (Obr. 3).

U genu *Stb5*: Délka výsledného produktu u rezistentní a citlivé rostliny nebyla publikována. Z našich výsledků je velikost přibližně 115bp u rezistentní rostliny a přibližně 170bp u citlivé. U testovaných vzorků se úsek DNA o velikosti 115bp vyskytuje všude. U některých rostlin se vyskytuje i úsek o velikosti 170bp. Nelze tedy opět říci, která rostlina je rezistentní a která náchylná (Obr. 4).

Odlišnost našich výsledků od publikovaných může mít několik důvodů. Jedním z nich je možná odlišnost genetického základu pšenic testovaných autory publikací a odrůdami českými. Většina výzkumů totiž pochází z USA, Anglie a Holandska, kde genetickým základem pro současné odrůdy budou tamní odrůdy, pěstované v odlišných podmínkách a šlechtěné jiným způsobem. Hledané mikrosatelity se tak v rostlinném genomu mohou nacházet na jiném místě, nebo nemusí být přítomny vůbec.

V některých PCR produktech jsou také přítomny i jiné úseky DNA, které autoři v publikovaných článcích neuvádějí a své markery uvádějí jako bezchybné. V některých případech nebylo dosaženo amplifikace predikované délky fragmentů ani po optimalizaci PCR reakce. Publikované markery tedy nelze aplikovat na libovolný genetický materiál a pro další výzkum bude důležité nalézt speciální molekulární markery vhodné pro detekci genů rezistence v českých odrůdách.

### **Acknowledgement**

Tato práce byla financována z následujících zdrojů: NAZV QH81284, MSM 6046070901.

### **Literatura**

- Adhikari T.B., Anderson J.M., Goodwin S.B. (2003): Identification and Molecular Mapping of a Gene in Wheat Conferring Resistance to *Mycosphaerella graminicola*, *Phytopathology* 93,1158-1164.
- Adhikari T.B., Yang X., Cavaletto J.R., Hu X., Buechley G., Ohm H.W., Shaner G., Goodwin S.B. (2004)a: Molecular mapping of *Stb1*, a potentially durable gene for resistance to septoria tritici blotch in wheat, *Theoretical and Applied Genetics* 109,944-953.

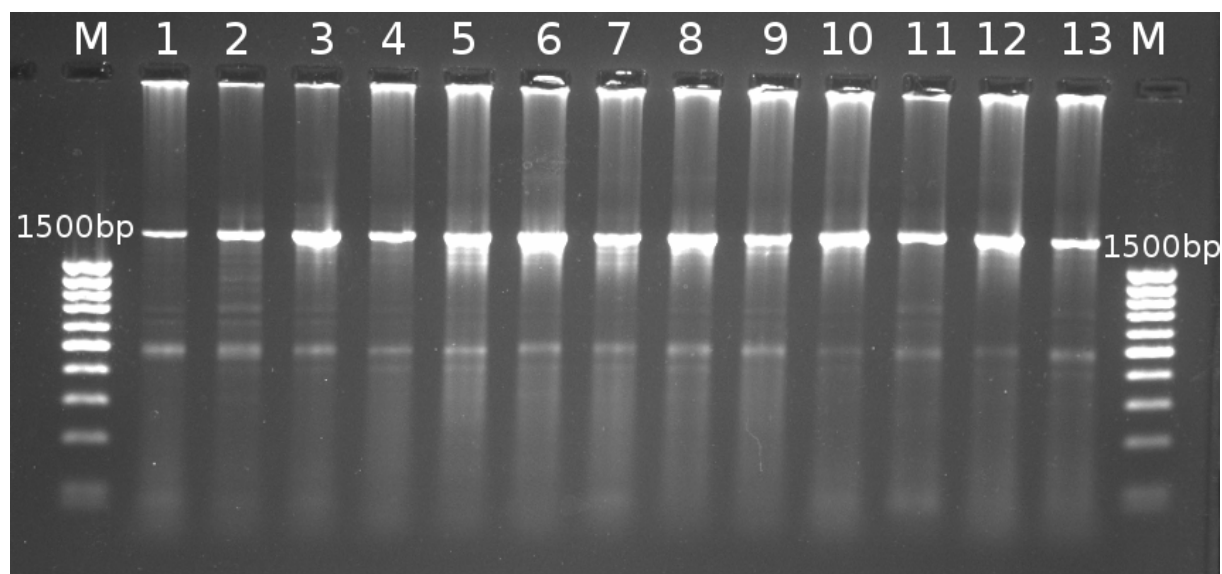


- Adhikari T.B., Wallwork H., Goodwin S.B. (2004)b: Microsatellite Markers Linked to the *Stb2* and *Stb3* Genes for Resistance to Septoria Tritici Blotch in Wheat, *Crop Science* 44,1403-1411.
- Adhikari T.B., Cavaletto J.R., Dubcovsky J.R., Gieco J.O., Schlatter A.R., Goodwin S.B. (2004)c: Molecular mapping of the *Stb4* gene for resistance to Septoria tritici blotch in wheat, *Phytopathology* 94,1198-1206.
- Arraiano L.S., Worland A.J., Ellerbrook C., Brown J.K.M. (2001): Chromosomal location of a gene for resistance to septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in the hexaploid wheat 'Synthetic 6x', *Theoretical and Applied Genetics* 103,758-764.
- Arraiano L.S., Chartrain L., Bossolini E., Slatter H.N., Keller B. and Brown J.K.M. (2007): A gene in European wheat cultivars for resistance to an African isolate of *Mycosphaerella graminicola*, *Plant Pathology* 56, 73-78.
- Brading P.A., Verstappen E.C.P., Kema G.H.J., Brown J.K.M. (2002): A gene-for-gene relationship between wheat and *Mycosphaerella graminicola*, the Septoria tritici blotch pathogen, *Phytopathology* 92,439-445.
- Cowling S.G., Brule-Babel A.L., Somers D.J. & Lamari L. (2006), Identification and mapping of *Stb13*, an isolate-specific wheat resistance gene to isolate MG96-36 (group 1) of *Mycosphaerella graminicola*. Manuscript.
- Fraaije B.A., Cools H.J., Fountaine J., Lovell D.J., Motteram J., Wes J.S., and Lucas J. A. (2005): Role of Ascospores in Further Spread of QoI-Resistant Cytochrome *b* Alleles (G143A) in Field Populations of *Mycosphaerella graminicola*, *Phytopathology* 95, 933-941.
- Ginkel, van M., McNab, A., Krupinsky J. (1999): *Septoria and Stagonospora Diseases of Cereals: A Compilation of Global Research*. eds., Mexico, D.F.: CIMMYT. ISBN: 970-648-035-8.
- Chartrain L., Brading P.A., Makepeace, J.C., Brown J.K.M. (2004): Sources of resistance to septoria tritici blotch and implications for wheat breeding, *Plant Pathology* 53:454-460.
- Chartrain L., Berry S.T., Brown J.K.M. (2005)a: Resistance of the wheat line Kavkaz-K4500 L. 6 A.4 to septoria tritici blotch is controlled by isolate-specific resistance genes, *Phytopathology* 95, 664-671.
- Chartrain L., Joaquim P., Berry S.T., Arraiano L.S., Azanza F., Brown J.K.M. (2005)b, Genetics resistance to septoria tritici blotch in the Portuguese wheat breeding line TE 9111: *Theoretical and Applied Genetics* 110, 1138-1144.
- McCartney C.A., Brûlé-Babel A.L., Lamari L., Somer, D. J. (2003): Chromosomal location of a race-specific resistance gene to *Mycosphaerella graminicola* in the spring wheat ST6, *Theoretical and Applied Genetics* 107,1181-1186.
- Rickwood D., Hames B.D. (1990): *Gel electrophoresis of nucleic acids: a practical approach*, 2nd ed., Oxford University Press, New York, ISBN. 0 19 963082-8.
- Röde, M.S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M-H., Leroy P., Gana, M.W. (1998): Microsatellite Map of Wheat, *Genetics* 149, 2007-2023.
- Slusarenko A.J., Fraser, R.S.S., van Loon L.C. (2000): *Mechanism of Resistance to Plant Disease*, Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, ISBN 0-7923-6418-X, p. 620
- Somasco O.A., Qualset C.O. and Gilchrist D. G. (1996): Single-gene resistance to *Septoria tritici* blotch in the spring wheat cultivar 'Tadinia', *Plant Breeding* 115, 261-267.
- Věchet L. (2007): Metodika poznání bráničnatky pšeničné (*Mycosphaerella graminicola*) a hodnocení symptomů, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., ISBN: 978-80-87011-32-4.
- Vejl P., Skupinová S., Sedlák P., Bardová M. (2002): *Analýza rostlinného genomu, Česká zemědělská universita v Praze*, ISBN 80-213-0903-2, p. 238.

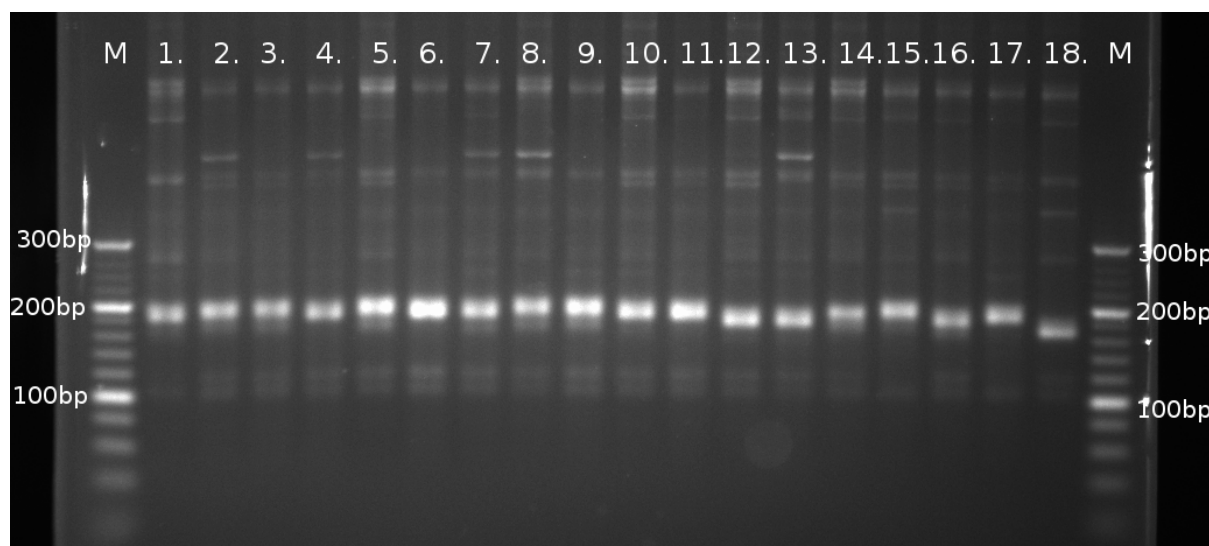
Tabulka 1 – Odrůdy pšenice použité k analýze

Nové odrůdy		Staré odrůdy		Kontrolní odrůdy	
1	Etela	13	Cejská	<i>Stb1</i>	Oasis – USA
2	Euforit	14	Hodonínská holice	<i>Stb2</i>	Nova-prata – Brazílie
3	Dromos	15	Detenická Zora	<i>Stb3</i>	Israel 493 – USA
4	Floret	16	Postoloprcká přesívka	<i>Stb4</i>	Cleo – Holandsko
5	Cubus	17	Hodonínská 193/46	<i>Stb5</i>	Bezostaya – Rusko
6	Simila	18	Selecty V111	<i>Stb6</i>	Bezostaya – Rusko
7	Baroko	19	Bucianská 316	<i>Stb7</i>	Estanzuela – USA
8	Bohemia	20	Non plus ultra II	<i>Stb8</i>	nebyla použita
9	Barryton	21	Klečanská osinatá		
10	Mulan	22	Židlochovická osinatá		
11	Hedvika	23	Bílá od Dukovan		
12	Herman	24	Pyšelka		
		25	Slovenská 200		
		26	Dregerová		

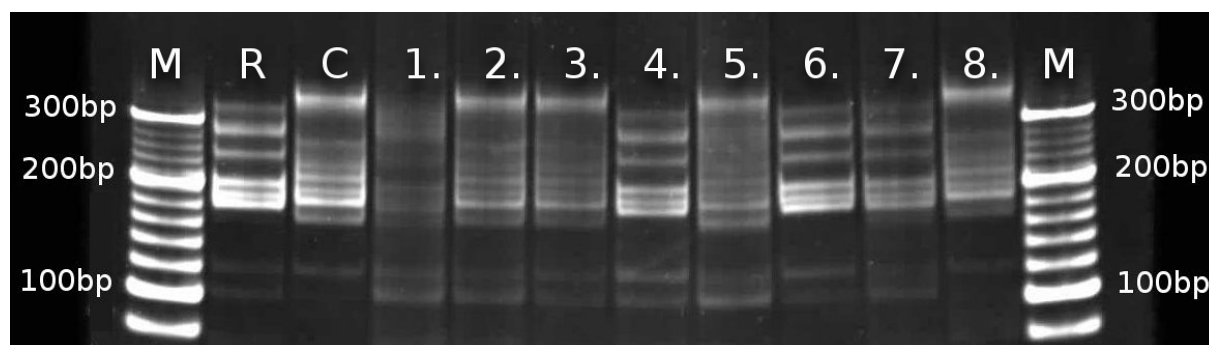
Obrázek 1 - Příklad agarózového gelu s využitím primerů pro detekci rostlinné DNA (*rbcl*)



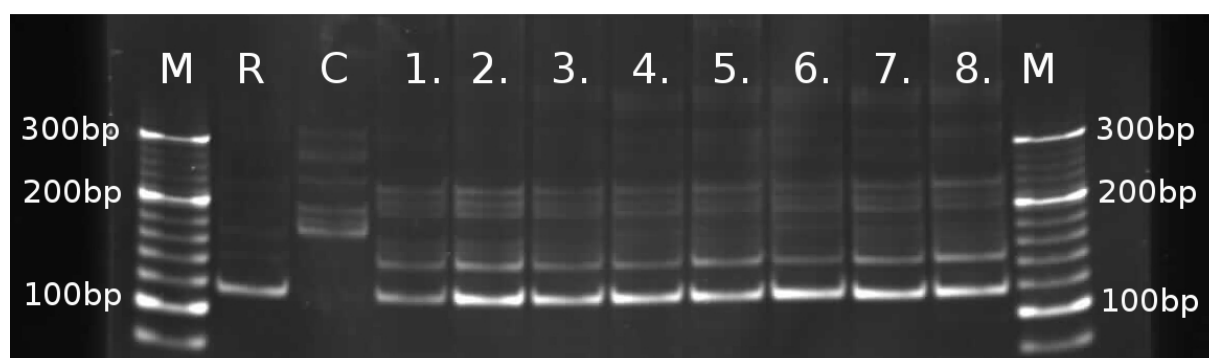
Obrázek 2: Agarózový gel s využitím primerů pro gen *Stb1* (*Xbarc71*)



Obrázek 3: Polyakrylamidový gel PCR produktů primerů pro *Stb1*, vzorky 1.-8.



Obrázek 4: Polyakrylamidový gel PCR produktů primerů pro *Stb5*, vzorky 1.-8.



Legenda k obrázkům:

M – molekulární DNA marker

R – rostlina nesoucí gen rezistence

C – rostlina neobsahující gen rezistence

1.-18. – testované vzorky

## **Alternarióza soudobého sortimentu pšeníc. - Alternariosis of up-to-date wheat varieties.**

RNDr. Josef Hýsek, CSc.<sup>1</sup>, Ing. Radek Vavera, Ph.D.  
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha - Ruzyně  
<sup>1</sup>e-mail: [hysek@vurv.cz](mailto:hysek@vurv.cz)

### **Abstrakt**

V roce 2009 se vyskytla na našem území na listech odrůd ozimé pšenice houba *Alternaria triticina*, která doprovází houby *Septoria tritici* a *Drechslera tritici-repentis* (DTR). Listová skvrnitost listů může redukovat výnos (přibližně o 20 i více%) a zhoršuje kvalitu osiva, neboť uvedené houby jsou přenosné v zárodku semene a mají vliv i na vzcházivost osiva. Jednotlivé odrůdy na lokalitách v Praze – Ruzyni a v Chrášťanech u Rakovníka byly zhodnoceny na napadení třemi uvedenými houbami pomocí devítibodové stupnice.

**Klíčová slova:** ozimá pšenice; houba *Alternaria triticina*, *Drechslera tritici-repentis* (DTR), *Septoria tritici*

### **Abstract**

In the year 2009 occurred on our area on the leaves of the varieties of winter wheat the fungus *Alternaria triticina* which accompanied the fungi *Septoria tritici* and *Drechslera tritici-repentis* (DTR). Leaf spottness could reduce the yield (approximately about 20% and more) and deteriorated the duality of the seed because these fungi are transferred in the seed embryo and seed vitality. Single varieties on the localities in Prague – Ruzyně and in Chrastany near Rakovník were evaluated on the infestation with three named fungi by means of nine-points scale.

**Key words:** winter wheat; fungus *Alternaria triticina*, *Drechslera tritici-repentis* (DTR), *Septoria tritici*

### **Úvod**

*Alternaria triticina* Prasad & Pradhu (1963) je fytopatogenní houba, která je spolupůvodcem listových skvrnitostí ozimé pšenice. Protože jsme v letošním roce vyšetřovali větší počet odrůd ozimé pšenice, kde se uvedená houba vyskytovala, rozhodli jsme se publikovat naše nálezy. Houba *Alternaria triticina* je uváděna v některých zemích jako karanténní mikroorganismus. Přesné typizaci houby napomůže jistě molekulární technika. Vliv změn v průběhu počasí zhodnotili Perello a Sisterna (2005), kteří zjistili výskyt listové skvrnitosti, které způsobila houba *Alternaria triticina* na různých odrůdách pšenice v Argentině. Zvláště teplota a vlhkost měly největší vliv na vývoj houby. Autoři provedli kultivaci houby na agarových médiích (bramborový agar, bramboro-mrkvový agar) a uměle infikovali mladé rostliny ve skleníku. Konidie houby jsou kónické, stupňovitě se rozšiřující, velikosti 15-92x8-35 μm s 1-10 příčnými septy a s 0-5 septy po délce. Významné výnosové ztráty způsobuje *A. triticina* na pšenici v Indii, kde byla původně zachycena (Prasad & Pradhu, 1963). Houba byla detekována v předchozích letech na listech pšenice v Argentině, kde přežívala jako minoritní patogen delší dobu. Současné zvýšení výskytu mohlo být ovlivněno: konvenčními technologiemi přípravy půdy, dusíkovým hnojením, zavlažováním a změnami počasí. V některých zemích je houba vzata jako karanténní organismus.

Někteří autoři jako např. Maity (2003) zkoumali vliv atmosférických parametrů na houby *Helminthosporium sativum* a *Alternaria triticina*, přenosné vzduchem. Koncentrace konidií ve vzduchu při teplotě 15<sup>0</sup>C a 28-29<sup>0</sup>C byla téměř stejná, ale vzrůstala u *A. triticina*. Důležitým faktorem byla rychlost větru. Nejvyšší životaschopnost konidií byla koncem února a na začátku března při teplotě okolo 28<sup>0</sup>C. Dnes je ve světě zkoumána i rezistence jednotlivých odrůd pšenice k houbě *Alternaria triticina*. V práci Kulshrestha a Rao (2004) bylo zjištěno, že geny náchylnosti pocházely z *Triticum durum*.

Uvedená houba se šíří zvláště za teplých a vlhkých podmínek (Dubin a Van Ginkel, 1991, Chaurasia et al., 2000, Joshi et al, 2004). Ztráty způsobené houbou kolísaly od 15,5 do 19,6% (Dubin a Van Ginkel, 1991), od 20 do 80% a vyšší ke 100% při silné infekci ( Mehta et al., 1992). Integrovaný přístup k ochraně by měl být hlavním kritériem pro dosažení efektivní ochrany (Mehta et al., 1992, Joshi et al., 2004) proti uvedené houbě.

## Materiál a metody

Na počátku je nutné provést seškraby sterilním skalpelem ze skvrn různého původu a připravit z nich nativní mikroskopické preparáty. Při větším zvětšení (500-600x) je nutné rozlišit konidie jednotlivých původců skvrn a na základě stěrů sterilními vatovými tampony a provést kultivaci za aseptických podmínek na specifické agarové živné půdy jako jsou sladinkový a bramborový agar podle doporučených receptur. Většina parazitických hub z listů obilnin je kultivovatelná (kromě obligátních biotrofů – padlí travní a rzi). Povrchové skvrny lze zdokumentovat pomocí různých digitálních fotografických zařízení. Konidie je třeba určit mikroskopicky a vyfotografovat mikroskopickou fotografickou technikou. Správná diagnostika se rozvíjí na základě mnohaleté praxe. I dnešní molekulární metody jsou na této praxi založeny, nejprve byly určeny typové druhy, poté byly připraveny primery DNA a rozlišovací reakce. Pokusy pro sledování výnosu a chorob na pšenici byly založeny na dvou lokalitách: v Chrášťanech u Rakovníka a v Praze – Ruzyni. Ze sortimentu byly hodnoceny následující odrůdy: Mulan, Raduza, Bohemia, Baletka, Biscay, Florett, Globus, Cubus, Baroko, Barryton, Bardotka, Ilias, Rheia, Meritto, Eurofit, Darwin, Akteur a Pannonia. U uvedených odrůd bylo vyhodnoceno povrchové napadení listů ve fázi mléčné zralosti

Tab.1 Charakteristiky počasí v Praze – Ruzyni a v Chrášťanech u Rakovníka v roce 2009.

Rok	Lokalita			
	Ruzyně	Chrášťany	Ruzyně	Chrášťany
Měsíc	t °C	t °C	Srážky (mm/m <sup>2</sup> )	Srážky (mm/m <sup>2</sup> )
Leden	-3,2	-4	10,4	8,6
Únor	0,1	-0,4	16,8	18,4
Březen	4,6	4,1	37,6	32,4
Duben	13,6	12,2	24,2	28,4
Květen	14,4	14,1	109,2	60,8
Červen	15,7	14,9	69,0	51,4
červenec	19,3	17,9	79,0	42,6
Suma srážek:			<b>346,2</b>	<b>242,6</b>

## Výsledky

Při sledování sortimentu současných pšenic v roce 2009 jsme zjistili, že všechny odrůdy na obou lokalitách jsou slabě napadeny nejen specifickými houbovými patogenními houbami - *Drechslera tritici-repentis* (DTR), *Septoria tritici* a *Phaeosphaeria nodorum* (dříve *Septoria*

*nodorum*), ale i houbou *Alternaria triticina* Prasada & Prabhu (1963) (Obr. 1 – 2). Uvedená houba byla přítomna ve všech směsných infekcích. Celková infekce listů nebyla vysoká, byla zasažena plocha do 20 % celkového povrchu praporcových listů, na starších listech bylo rovněž zjištěno slabé napadení. Zajímavým faktem je, že rozdíly v napadení jednotlivých odrůd byly pouze velmi malé. V Praze-Ruzyni bylo napadení podstatně nižší ve srovnání s lokalitou v Chrášťanech.

Tab.1 Napadení odrůd pšenice v Praze-Ruzyni a v Chrášťanech

Ruzyně/Chrášťany	DTR	Sept.tritici	Alternaria
Mulan	8-7/7-6	8-9/8-7	8-7/7-6
Radbuza	8-7/7-6	8-7/5-6	7-6/6-5
Bohemia	8-7/5-4	8-7/7-6	8-7/6-5
Baletka	7-6/5-4	8-7/7-6	8-7/7-6
Biscay	8-7/7-6	8-7/7-6	8-7/6-5
Florett	9-8/8-7	9-8/8-7	8-7/7-6
Globus	9-8/8-7	9-8/8-7	8-7/6-5
Cubus	8-7/7-6	8-7/7-6	7-6/6-5
Baroko	7-6/6-5	7-6/7-6	7-6/6-5
Baryton	7-6/6-5	7-6/6-5	7-6/6-5
Bardotka	7-6/6-5	8-7/7-6	6-5/5-4
Ilias	8-7/7-6	8-7/7-6	6-5/5-4
Rheia	8-7/7-6	8-7/7-6	6-5/5-4
Meritto	7-6/6-5	8-7/7-6	6-5/5-4
Eurofit	8-7/7-6	8-7/7-6	5-4/4-3
Darwin	8-7/7-6	8-7/7-6	6-5/4-3
Akteur	8-7/7-6	8-7/7-6	6-5/5-4
Pannonia	5-4/5-4	8-7/6-5	6-5/5-4

Stupnice napadení:

- 9 – odrůda nenapadena
- 8 - odrůda velmi slabě napadena (do 5 % celkové listové plochy)
- 7 – odrůda slabě napadena (do 10% celkové listové plochy)
- 6 - odrůda slabě napadena (do 20% celkové listové plochy)
- 5 - odrůda slabě napadena (do 30% celkové listové plochy)
- 4 - odrůda středně napadena (do 40% celkové listové plochy)
- 3 – odrůda silně napadena (do 50 % listové plochy)
- 2 – odrůda silně napadena (do 75% listové plochy)
- 1 – odrůda velmi silně napadena (do 100% listové plochy)

Napadení na lokalitě v Praze-Ruzyni bylo o jeden stupeň vyšší (nižší napadení) než v Chrášťanech u Rakovníka.

### Diskuse a závěr

Houbový rod *Alternaria* vyvolává běžné mykózy různých plodin, jak se ukázalo v naší práci, může být i spolupůvodcem listových skvrnitostí ozimé pšenice. Napadení septoriemi, helminthosporií (DTR) tak provází další houba, která prohlubuje patogenní proces v listech. Houby rodu *Alternaria* vyvolávají běžné mykózy rostlin. Při našem hodnocení sortimentu ozimých pšenic na výskyt patogenních hub na listech kromě vysokého napadení houbami

*Septoria tritici* a *Drechslera tritici-repentis* (dnes všeobecně známá jako DTR) překvapil vysoký výskyt houby *Alternaria triticina* Prasad & Pradhu (1963). Uvedená houba způsobuje na listech pšenice hnědé až tmavohnědé skvrny na seškrabech ze skvrn se vyskytují konidie. Houba vyvolává primárně tvorbu skvrn a významně redukuje asimilační plochu listů. Vytváří též mykotoxiny. Ochranou proti *Alternaria triticina* jsou přípravky založené na bázi carbendazimu. Předpokladem pro možný zásah je vyšetření povrchu rostlin, zvláště listů, z nichž mohou být provedeny stěry, které je nutné kultivovat na médiích pro kultivaci hub (bramborový agar s glukózou, sladinkový agar). Kolonie alternárií jsou většinou tmavě hnědé až černé. Mycelium je tmavé spolu se zdřovitými konidii, které jsou velikostí i morfologií buněk typické pro jednotlivé druhy. Rod *Alternaria* se rozšířil v roce 2009 pravděpodobně z důvodu poměrně teplého a vlhkého počasí (Dubin a Van Ginkel, 1991, Chaurasia et al., 2000, Joshi et al, 2004). Bylo by nutné zjistit rezistenci odrůd ozimých pšenic nejen ke komplexu hub *Septoria tritici* a *Drechslera tritici-repentis*, ale též ke směsi s houbou *Alternaria triticina* (Maity, 2003). Je třeba velmi pružně reagovat na výskyt této uvedené patogenní houby, aby nedošlo k možné epidemii, při které by se snížily jak výnosy ozimé pšenice, tak by došlo k většímu rozšíření patogenní houby u nás.

### Acknowledgement

Příspěvek byl zpracován s podporou Výzkumného záměru MZe 0002700604

### Literatura

- Chaurasia S., Chand R., Joshi A.K. (2000): Relative dominance of *Alternaria triticina* Pras. & Prab. and *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker, in different growth stages of wheat (*T. aestivum* L.). J. Plant Dis. Prot. 107, 176-181.
- Dubin H.J., Van Ginkel M. (1991): The status of wheat diseases and disease research in charmer areas. P. 125-145. In: D.A. Saunders (ed.) Wheat for the Nontraditional Charmer Areas. CIMMYT, Mexico, D.F.
- Mehta Y.R., Riede C.R., Campos A.A.C., Kohli M.M. (1992): Integrated management of major wheat diseases in Brazil.: An example of southern cone region of Latin America. Crop Prot. 11: 517-524.
- Perelló, A.E., Cisterna, M.N. (2005): Leaf blight of wheat caused by *Alternaria triticina* in Argentina. New Disease Reports. Internet <http://www.bspp.org.uk/publications/new-disease-reports/ndr.php?id=011024>
- Maity S.S. (2003): Effect of Meteorological Factors on Production of Conidia of *Helminthosporium* sp. and *Alternaria* sp. Incidents of Folia Blight of Wheat. Annals of Plant Protection Science 11, 2.
- Kulshrestha V.P., Rao M.V. (2004): Genetics of resistance to an isolate of *Alternaria triticina* causing leaf blight of wheat. Euphytica 10, 1, 769-775.
- Joshi A.K., Chand R., Kumar S., Singh R.P. (2004): Leaf Tip Necrosis (A Phenotypic Marker Associated with Resistance to Spot Blotch Disease in wheat. Crop Sci. 44, 792-796.

