



národní  
úložiště  
šedé  
literatury

## **Biologická ochrana a indukovaná rezistence rostlin k chorobám a škůdcům**

Věchet, Lubomír  
2010

Dostupný z <http://www.nusl.cz/ntk/nusl-387412>

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

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

Datum stažení: 23.04.2024

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



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

## **Biologická ochrana a indukovaná rezistence rostlin k chorobám a škůdcům**



**Biological protection and plants induced resistance  
to diseases and pests**

**8. Odborný seminář 25. 11. 2010.**



Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.  
161 06 Praha 6 – Ruzyně, Drnovská 507  
Odborný garant: Ing. Lubomír Věchet, CSc.  
**ISBN: 978-80-7427-048-2**

## Obsah

Biologická ochrana a indukovaná rezistence rostlin k chorobám a škůdcům.....	4
Biological protection and plants induced resistance to diseases and pests. ....	4
Vliv biomořidel a rozdílného způsobu založení porostu ozimé pšenice na složení půdního spektra mikromycet. ....	9
The influence of biological seed dressing and different soil tillage for winter wheat on the composition of soil micromycetes spectrum. ....	9
Účinnost přípravků na bázi oleje ze semen <i>Pongamia glabra</i> Vent. na housenky <i>Plutella xylostella</i> L. ....	16
Efficacy of botanical insecticides based on seed oil from <i>Pongamia glabra</i> Vent. against <i>Plutella xylostella</i> L. larvae. ....	16
Supresivní vliv křídlatky a dalších vybraných rostlinných druhů na klíčivost a nekrózu listů	23
Suppressive effect of Knotweed and other selected plant species on the germination and foliar necrosis.....	23
Indukovaná rezistence pšenice proti padlí travnímu ( <i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> ). ....	30
Induced resistance of wheat to pokery mildew ( <i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> ). ....	30

## **Biologická ochrana a indukovaná rezistence rostlin k chorobám a škůdcům.**

### **Biological protection and plants induced resistance to diseases and pests.**

Ing. Lubomír Věchet, CSc.

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

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

Půda se začala obdělávat na Středním východě v období 9 000 až 7 000 let př. n. l., kdy došlo k celosvětovému zlepšení podnebí po poslední době ledové. Z jihozápadní Asie se znalost pěstování rostlin rozšířila přes Sýrii a Palestinu do severovýchodní Afriky a do ostatních částí Asie a Evropy. Plodiny pěstované v těchto oblastech se podobaly dnešním, to znamená rýže, oves, boby, hrách, kukuřice, maniok atd. Počátkem 20. Století se čím dál rychleji rozvíjela mechanizace zemědělství, zejména v Americe a později i v Evropě. Od roku 1918 se začal snižovat počet lidí zaměstnaných v zemědělství. Třicátá léta znamenala počátek používání chemických přípravků ve velké a používání umělých hnojiv.

Konvenční zemědělství, intenzivní zemědělství s využitím umělých hnojiv a chemických prostředků na ochranu rostlin přineslo obrovské zvýšení výnosů, ale také znečištění životního prostředí, ohrožení půdy erozí, její vyčerpání, zdevastování krajiny a nekvalitní potraviny. Naopak ekologické zemědělství je způsob hospodaření kombinující nové poznatky s tisíciletými zkušenostmi našich předků, bez používání umělých hnojiv, chemických přípravků, postřiků, hormonů a umělých látek, zatěžujících životní prostředí a kontaminujících potravní řetězce. Je zdrojem kvalitních potravin, čistého životního prostředí a základem udržitelného rozvoje. V České republice k 20. 8. 2010 přesáhla výměra 55 000 ha ekologicky obhospodařované půdy 10% z celkové zemědělské půdy s počtem 3 500 biozemědělců a 643 výrobců biopotravin.

K ochraně rostlin proti chorobám a škůdcům je možné použít metody přímé a nepřímé. Nepřímé metody jsou ty, které vytváří nepříznivé prostředí pro rozvoj škodlivých organismů (vhodná agrotechnika, karanténa a šlechtění rostlin). Přímé metody, sem patří integrovaná ochrana rostlin zavedená v 60. létech minulého století, zahrnují chemické, mechanické, biologické a fyzikální způsoby regulace škodlivých organismů.

Za první úspěšnou biologickou ochranou je považována introdukce sluněčka (*Rodolia cardinalis*) z Austrálie do citrusových sadů v Kalifornii proti červci (*Icerya purchasi*) v roce 1888. První mezinárodní symposium s tematikou biologické ochrany rostlin se konalo roku 1969 v Berkley (USA). Biologické prostředky působí pomaleji, než chemické a závisí na biotických a abiotických podmínkách daného prostředí. Umožňuje však provádět aktivní, přímou, cílenou ochranu rostlin, aniž by rušivě zasahovala do daného ekosystému. Biologické prostředky nejsou toxické pro živočichy a mohou mít dlouhodobý efekt. Může být přínosná v ekologické zemědělství, organickém zemědělství nebo v rámci integrované ochrany.

**Biologická ochrana rostlin** je ochrana prováděná biologickými prostředky, tj. záměrným využíváním živých organismů – přirozených nepřátel škodlivých organismů nebo antagonistických organismů, případně jejich metabolitů, k potlačování populací škodlivých druhů omezováním jejich vývoje a šíření. Jejím cílem není vymýcení populací škodlivých činitelů, ale regulace jejich četnosti na tolerované úrovni, tj. pod ekonomickým prahem škodlivosti.

### Taktiky biologické kontroly:

1. Supresivní půdy. Řada půdou přenosných patogenů, jako *Fusarium oxysporum*, *Gaeumannomyces graminis*, *Pythium* app. způsobuje závažné problémy. Byla nalezena řada antagonistických mikrobů ke zvýšení v supresivních půdách. Avšak nejobecněji byla supresivita demonstrována u houbových antagonistů, tak jako *Trichoderma*, *Penicillium* nebo bakteriálních antagonistů rodu *Pseudomonas*, *Bacillus* a *Streptomyces*.
2. Bio-kontrola prostřednictvím hyperparazitů. Hyperparazité se osvědčili jako ideální organizmy pro řadu půdou přenosných, stejně jako vzdušných patogenů rostlin. Mycelium a klidové spory (oospory) nebo sklerotia řady patogenních půdních hub, tak jako *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia* a *Sclerotium* jsou napadeny a parazitovány nebo rozkládány (mykolýza) řadou hub (nepatogenů). Tyto houby zahrnují některé oomycety, chytridiomycety a hyphomycety, bakteriální aktinomycety. Mezi nejběžnější mykoparazitické houby patří *Trichoderma* spp., hlavně *T. harzianum*, která parazituje mycelium *Rhizoctonia* a *Sclerotium*, inhibuje růst mnoha ostatních hub jako *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium* a redukuje choroby.
3. Nástraha rostlin. Škůdci přitahováni hlavní plodinou tak, aby daly přednost nástrahové plodině, jež je promyšleně vysázena v pěstební oblasti. Například řádky rýže, kukuřice a ostatních vyšších rostlin pěstovaných kolem pole s fazolí, paprikou nebo dýní zastaví nálet mnoha mšic nesoucích viry, které napadají fazole, papriku nebo dýni.
4. Antagonistické rostliny. Rostliny jako chřest a aksamitník rozkladitý jsou antagonistické k nematodám, protože uvolňují substance v půdě, jež jsou toxické k řadě rostlinných parazitických nematod.

Rovněž tak zvané sekundární metabolity, které jsou typickým znakem rostlin, jsou mimořádně důležité a mohou ochránit rostliny proti širokému sortimentu mikroorganismů (viry, bakterie, houby) a býložravců (členovci, obratlovci).

**Indukovaná rezistence** je fyziologický „stav zvýšené obranné schopnosti“ vyvolaný specifickými vnějšími stimuly, pomocí něhož jsou vrozené obrany rostlin zesíleny následnými biotickými změnami (van Loon et al., 1998). Tento zvýšený stav rezistence je efektivní proti široké řadě patogenů a parazitů, včetně hub, bakterií, virů, nematod, parazitických rostlin a dokonce proti býložravému hmyzu (Benhamou and Nicole, 1999); Hammersmidt and Kuc, 1995; Kesler and Baldwin, 2002; McDowell and Dangel, 2000; Sticher et al., 1997; van Loon et al., 1998; Walling, 2000).

Koncem padesátých let nastal zvýšený zájem o indukovanou rezistenci a v posledních deseti letech se zájem soustřeďuje na možnost praktické aplikace. Rezistence rostlin indukovaná patogenem byla prvně rozpoznána Rayem (1901) a Beauverievem (1901). Chester (1930) potvrdil tyto studie, shrnul polní pozorování a předpokládal, že tato myšlenka může hrát důležitou úlohu v ochraně rostlin v přírodě. Avšak přesvědčivé důkazy byly získány až v šedesátých letech, kdy byly vytvořeny reprodukovatelné modely s použitím rostlin tabáku (Cruickshank & Madryk, 1960; Ross 1961a; Ross, 1961b; Madryk, 1963). Kuc (2001) připravil půdu k pochopení indukované rezistence, jako nástroje v ochraně rostlin. To bylo podpořeno četnými autory z celého světa (Schönbeck et al., 1993; Kessman et al., 1994; Schneider et al., 1996; Van Loon et al., 1998; Benhamou & Picard, 1999; Tally et al., 1999; Cohen 2000; Bokshi et al., 2003; Gozzo, 2003; Soyly et al., 2003). Využíváním jedinečného potenciálu rostliny k boji proti patogenům může indukovaná rezistence snížit požití toxických chemikálií v kontrole chorob a tak by mohla být nabídnuta jako alternativní, nekonvenční, biologický a ekologický přístup pro ochranu rostlin, zejména v udržitelném zemědělství.

Podle van Loon et al. (2006) jsou známy čtyři typy indukované rezistence:

- A) Lokálně získaná rezistence (LAR - local acquired resistance)

- B) Systémově získaná rezistence (SAR - systemic acquired resistance)
- C) Indukovaná systémová rezistence (ISR - induced systemic resistance)
- D) Indukovaná rezistence proti poranění býložravým hmyzem (WIR - wound-induced resistance)

### **Lokálně získaná rezistence (LAR)**

Rezistence zahrnuje akumulaci antimikrobiálních sloučenin v části rostliny, vzdálené od místa infekce. (Agrios, 1997). Může to být jednoduše systémově získaná rezistence v krátké vzdálenosti (Sticher et al., 1997), ale přinejmenším část mechanismu může být odlišná. V místě kontaktu mezi patogenem a rostlinou jsou elicitory patogena schopny vzájemně reagovat s receptory rostliny tak, jako jsou leucinem bohaté reprodukováné proteiny (Jones & Jenes, 1997), které nebyly nalezeny v živočišných buňkách (Alberts et al., 1994). Samotné transdukční dráhy ještě nebyly vysvětleny, ale možná vyžadují tvorbu  $Ca^{2+}$  (Mehdy, 1994) nebo proteinkinázy (Jones & Jenes, 1997), anebo je iniciována tvorba peroxidu vodíku (Mehdy, 1994). Peroxid vodíku zabíjí buňky a bylo zjištěno, že indukuje syntézu kyseliny salicylové (Leon et al., 1998). Jestliže je kyselina salicylová produkována v dostačujících koncentracích, může být schopna indukovat lokálně získanou rezistenci v okolních živých tkáních bez potřeby skutečného systémového signálu zahrnutého v SAR. Z toho důvodu hypersenzitivní reakce vede k lokálně získané rezistenci, která sama iniciuje systémově získanou rezistenci.

### **Systémově získaná rezistence (SAR)**

Je vyjádřena v rostlině jako úplná v reakci k napadení patogenem (Ryals et al., 1994). SAR je rezistence tkání rostliny vzdálených od místa pokusu k penetraci patogena. SAR vyžaduje signální molekulu kyseliny salicylové (SA) a je spojena s akumulací k patogenezí vztažených proteinů (Durrant & Dong, 2004). Může být spuštěna vystavením rostliny virulentním, avirulentním a nepatogenním mikrobům nebo uměle chemikáliemi, tak jako jsou kyselina salicylová, 2,6-dichloro-isonicotinická kyselina nebo S-metylester kyseliny 1, 2, 3-benzotiazolové, BTH (benzothiadiazol). Tato rezistence je cílená k širokému spektru potenciálních patogenů, a ne pouze k jednomu patogenu, který tuto reakci inicioval (Sticher et al., 1997). Hlavní složkou SAR je akumulace PR proteinů (pojmenované jako SAR proteiny, protože se PR proteiny také akumulují při HR), která vyžaduje signální molekuly kyseliny salicylové ve všech částech rostliny (Cameron et al., 1994). Často je však jako komponent SAR ignorována lignifikace. Například u okurky je SAR vyjádřena HR v tkáních, spíše než nekrózy po napadení patogenem (Durrant & Dong, 2004). Narušení schopnosti rostliny akumulovat kyselinu salicylovou končí většinou ve ztrátě projevu k patogenezí vztažených genů a oslabení reakce SAR, a to zejména, když jsou pro indukci použity patogeny (Lawton et al., 1995). PR proteiny se akumulují v obou, jednoděložných a krytosemenných rostlinách a ukázaly antimikrobiální aktivitu.

### **Indukovaná systémová rezistence (ISR)**

Růst rostliny podporují rhizobakterie (*Pseudomonas fluorescens*), které vyvolávají reakci nezpůsobující nekrózy (Sticher et al., 1997). Rhizosferní bakterie jsou přítomny na velkém počtu povrchů kořenů, kde rostlinné exudáty (vyloučené látky a produkty lýzy poskytují živiny (Lynch & Whipps, 1991). Určité druhy rhizosférických bakterií stimulují růst rostliny a jsou tudíž nazývány rhizobaktériemi podporující růst (PGPR). U druhů, které byly izolovány z půd přirozeně potlačující choroby, zejména *Pseudomonas* spp. bylo demonstrováno, že redukuje choroby rostlin potlačováním v půdě zrozených patogenů. Peroxid kyseliny salicylové je mobilní signální dráha, která může fungovat v LAR, ale nemůže se vyskytnout v ISR. Kromě toho, ale ne vždy, rezistence koreluje s produkcí PR-proteinů (Pieterse et al., 2000), a to také indukuje rezistenci k hmyzu. Funkce je obvykle spojena s dráhou kyseliny jasmonové, vedoucí k defenzinům a inhibitorům proteáz. Zdá se, že ISR je odlišná od SAR a může být částí SAR indukované rezistence.

## **Indukovaná rezistence proti poranění býložravým hmyzem (WIR)**

Napadení rostlin hmyzem vede k systémovému projevu inhibitorů proteinázy, které redukuje aktivitu enzymů býložravého hmyzu (Sticher et al., 1997). Jsou známy tři signály, které v tomto systému působí. Je to opět kyselina jasmonová, systemin a oligogalakturonidy odvozené od degradovaného pektinu (Ryan, 1992).

Fascinující oblast výzkumu je indukce SAR biotickými elicitory, odvozenými molekulami patogena. Biotické elicitory zahrnují odlišné chemické skupiny (polysacharidy, lipidy, proteiny a skupiny mezi nimi) a jsou aktivní na různé hostitelské rostliny proti různým patogenům (Lyon et al., 1995; Benhamou & Picard, 1999; Aziz et al., 2003). U tabáku byly získány povzbudivé výsledky s biotickými elicitory houbového původu označené „elicitiny“. Elicitory jsou malá skupina konzervovaných (uchovaných) 10Kd sekretů holoproteinů nesoucí toto obecně používané jméno a jsou prvně charakterizované jako proteinové houbové elicitory. Jsou vyměšovány různými druhy hub *Phytophthora*: acidic a-elicitins (capsicein and parasiticein) – z *P. capsici* a *P. parasitica* jednotlivě a základní (cryptogein and cinnamomin) – z *P. cryptogea* a *P. cinnamomi*. Jejich struktura, biologická aktivita, genetické základy a biochemické mechanismy působení jsou předmětem intenzivního výzkumu (Blein et al., 1991; Viard et al., 1994; Rusterucci et al., 1996; Simon-Plas et al., 1997; Dahan et al., 2001).

## **Literatura**

- Agrios G. N. (1997): Plant Pathology, 4th ed. (New York: Academic Press), 43–62.
- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. (1994): Molecular biology of the cell. Published by Garland Science, a member of the Taylor & Francis Group.
- Aziz A., Poinssot B., Daire X., Adrian M., Brier A., Lambert B., Joubert J-M., Pugin A. (2003): Laminarin elicits defense responses in grapevine and induces protection against *Botrytis cinerea* and *Plasmopara viticola*. *Mol. Plant-Microbe Inter.* 16: 1118-1128.
- Benhamou N., Picard K. (1999): La résistance induite: une nouvelle stratégie de défense des plantes contre les agents pathogènes. *Phytoprotection*.80: 137-168.
- Blein J.P., Milat M.L., Ricci P. (1991): Responses of cultured tobacco cells to cryptogein, a proteinaceous elicitor from *Phytophthora cryptogea*. Possible plasmalemma involvement. *Plant Physiol.* 95: 486-491.
- Cameron, R.K., Dixon R.A., Lamb C.J. (1994): Biologically induced systemic acquired resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 5, 715–725.
- Dahan J., Etienne P., Petitot A.S., Houot V., Blein J.P., Suty L. (2001): Cryptogein affects expression of *\_3*, *\_6*, and *\_1* 20S proteasome subunits encoding genes in tobacco. *J Exp Bot.* 52: 1947-1948.
- Dangl J.L., Jones J.D.G. (2001): Plant pathogens and integrated defence response to infection. *Nature*, 411: 826-833.
- Durrant W.E., Dong X. (2004): Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology* 42: 185-209.
- Jakab G., Cottier V., Toquin V., Rigoli G., Zimmerli L., Métraux J.P., Mauch-Mani B. (2001):  $\beta$ -aminobutyric acid-induced resistance in plants. *Eur. J. Plant Pathol.* 107: 29–37.
- Jones D.A., Jones J.D. (1997): The role of leucine-rich repeat proteins in plant defences. *Adv. Bot Res.* 24?: 89-167.



- Lyon G.D., Reglinski T., Newton A.C. (1995): Novel disease control compounds: the potential to “immunize” plants against infection. *Plant Pathol.* 44: 407-427.
- Keen N.T. (2002): A century of plant pathology: a retrospective view on understanding host-parasite interactions. *Annu. Rev. Phytopath.* 38: 31-48.
- Lawton, K., Weymann K., Friedrich L., Vernooij B., Uknes S., Ryals J. (1995): Systemic acquired resistance in *Arabidopsis* requires salicylic acid but no ethylene. *Mol. Plant-Microb. Interact.* 6, 863–870.
- Mehdy M.C. (1994): Active oxygen species in plant defense against pathogens. *Plant Physiol.* 105: 467-472.
- Lynch J.M., Whipps J.M. (1991): Substrate flow in the rhizosphere. In: Keister DL, Cregan PB, eds. *The Rhizo-sphere and Plant Growth*. Dordrecht: Kluwer, 15-24.
- Pieterse C.M.J., van Pelt J.A., Ton J., Parchmann S., Müller M.J., Buchala A .J., Métraux J. P., van Loon L.C. (2000): Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* requires sensitivity to jasmonate and ethylene but is not accompanied by an increase in their production. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 57, 123-134.
- Pronese P., Ruiz M.T., Coca M.A., Hernandez-Lopez A., Lee H., Ibe J.I. (2003): In defence against pathogens. Both plant sentinels and foot soldiers need to know the enemy. *Plant Physiol.*, 131: 1580-1590.
- Rusterucci C., Stallaert V., Milat M-L., Pugin A., Ricci P., Blein J-P. (1996): Relationship between active oxygen species, lipid peroxidation, necrosis, and phytoalexin production induced by elicitors in *Nicotiana*. *Plant Physiol.* 111: 885-891.
- Ryals J., Uknes S., Ward E. (1994): Systemic acquired resistance. *Plant Physiology* 104: 1109-1112.
- Ryan, C. A. (1992): Search for the proteinase inhibitor inducing factor, PIIF. *Plant Molecular Biology* 19: 123-133.
- Scheel D. (1998): Resistance response physiology and signal transduction. *Curr. Opin.. Plant Biol.* 1: 305-310.
- Simon - Plas F., Rusterucci C., Milat M-L., Humbert C., Montillet J.L., Blein J.P. (1997): Active oxygen species production in tobacco cells elicited by cryptogein. *Plant Cell Environ.* 20: 1573-1579.
- Sticher L., Mauch-Mani B., Métraux J. P. (1997): Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 35: 235-270.
- van Loon L.C, van Oosten V.R., Ton J., de Vos M., Pieters C.M.J. (2006): Adaptive induced resistance response to pathogens and herbivorous insects. In: 8<sup>th</sup> Conference of the European Foundation for Plant Pathology & British Society for Plant Pathology Presidential Meeting 2006. 13-17 August KVL, Frederiksberg, Denmark.
- Viard M.P., Martin F., Pugin A., Ricci P., Blein J-P. (1994): Protein phosphorylation is induced in tobacco cells by the elicitor cryptogein. *Plant Physiol.* 104: 145 149.

## Vliv biomořidel a rozdílného způsobu založení porostu ozimé pšenice na složení půdního spektra mikromycet.

### The influence of biological seed dressing and different soil tillage for winter wheat on the composition of soil micromycetes spectrum.

RNDr. Josef Hýsek, CSc., Ing. Milan Vach, CSc., Ing. Miloslav Javůrek, CSc.

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

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

#### Abstrakt

Biomořidla, založená na antagonistických mikroorganismech, aplikovaných jako mořidlo, měly u ozimé pšenice příznivý vliv na složení půdního spektra mikromycet, neboť potlačovaly jeho patogenní složku (zvláště rody *Fusarium*, *Septoria*, *Drechslera* aj.). Rovněž klasické zpracování půdy se zaoráním rostlinných zbytků mělo velký fytohygienický význam pro potlačení původců houbových chorob.

**Klíčová slova:** ozimá pšenice, biomořidla, patogenní houby, zpracování půdy

#### Abstract

Biological seed-treatment agents applied for winter wheat seeds as a seed dressing, based on antagonistic microorganisms, had favourable effect on the composition of soil spectrum of micromycetes. They suppressed its pathogenic compound (namely genera *Fusarium*, *Septoria*, *Drechslera* and others). Likewise, soil tillage methods, namely classical ploughing with infected plant residues incorporation deep into the soil, played great phyto-sanitary role on the depression of the fungal pathogens.

**Keywords:** winter wheat, biological seed-treatment, pathogenic fungi, soil management

#### Úvod

Půdní mikroorganismy zahrnují nejen bakterie, aktinomycety, prvoky, řasy a další, ale především mikroskopické houby (mikromycety), z nichž mnohé jsou patogenní pro obilniny. Do zmíněné skupiny patří houby rodů *Fusarium*, *Septoria*, *Drechslera*, *Oculimacula* (syn. *Pseudocercospora*), *Gaeumannomyces*, *Typhula* a další. Na začátku výzkumu, zaměřeného na antagonistické mikroorganismy, byla studována živná média, na nichž by bylo možné studovat antagonismus „in vitro“. I v poslední době jsou antagonismy a priori sledovány na klasických médiích. Např. antagonismus proti *Botrytis cinerea* vlivem antibiotika gramicidinu S byl pozorován u *Brevibacterium brevis* (Edwards a Seddon, 2008). I některé běžné půdní bakterie jako *Bacillus subtilis* a *Bacillus cereus* měly silný antagonistický efekt k různým patogenním houbám (Omoifo a Ikotun, 2007). Houba *Clonostachys rosea* byla použita k ochraně obilnin (Jensen et al., 2000). Baturó (2006) použil některé biopreparáty k ochraně obilnin v rámci organického zemědělství. Tagawa et al. (2010) testoval antagonistické houby proti aktinomycetě *Streptomyces* sp. u brambor.

V naší práci jsme se věnovali biologické ochraně ozimé pšenice s pomocí různých biomořidel založených na bázi antagonistických mikromycet a různých kmenů *Trichoderma harzianum*. Veškerá tato sledování byla vyhodnocena i v rámci různých způsobů založení

porostů ozimé pšenice. Jednalo se o varianty s redukováním zpracováním půdy (nižší hloubka a intenzita zpracování), dále o přímý výsev bez zpracování půdy s využitím mulče z předplodiny v porovnání s klasickou konvenční technologií, zahrnující orbu jako součást základního zpracování půdy.

## **Materiál a metody**

Polní pokusy byly založeny na pozemcích VÚRV Praha-Ruzyně. Použitá odrůda ozimé pšenice Cubus byla vyseta v následujících variantách ve 4 opakováních:

1. kontrolní varianta, nemořeno
2. hnojení N 100 kg/ha (LAV) + moření osiva přípravkem Supresivit 5 g na 1 kg osiva
3. hnojení N 100 kg/ha (LAV) + moření osiva přípravkem Trianum P 5 g na 1 kg osiva

Způsob založení porostu ozimé pšenice:

- A. Klasický způsob založení porostu (tj. střední orba, základní příprava půdy včetně aplikace P, K hnojiv, urovnání povrchu a setí běžným secím strojem)
- B. Setí do nezpracované půdy, pokryté mulčem z drcené slámy a z posklizňových zbytků předplodiny speciálním secím strojem John Deere 750A. P, K hnojiva aplikována na povrch půdy pod mulč.
- C. Setí do mělce zpracované půdy (12 – 15 cm) se zapravenou rozdrčenou slámou předplodiny včetně P, K hnojiv secím strojem John Deere 750A

Před setím ozimé pšenice byla k osivu byla přidána biomořidla Supresivit, resp. Trianum P, která byla v uzavřené nádobě důkladně promísena (homogenizována) s osivem.

Během vegetace v měsíčním intervalu byly vzorky půdy odebrány z jednotlivých pokusných parcel z hloubky 10 cm. Půda byla vysušena při teplotě 20<sup>0</sup>C. Do 500 ml sterilní vody bylo přidáno 5 g vysušené půdy, která byla třepána po dobu 30 min. Poté byl ze směsi odebrán 1 ml a přemístěn do sterilní Petriho misky a tento vzorek byl přelit chladnoucí Czapek-Doxovým agarem. Po ztuhnutí byly misky inkubovány při teplotě 23<sup>0</sup>C po dobu 10 dní. Z narostlých kolonií hub byly připraveny polotrvalé preparáty v laktofenolu s methylenovou modří.

## **Výsledky**

### a) Spektrum mikromycet v půdě před setím ozimé pšenice

Před setím byly v půdě zjištěny především houby rodů: *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Acremonium*, *Humicola*, *Aspergillus*. Ze semipatogenních rodů se v půdě zvláště na rostlinných zbytcích vyskytovaly *Fusarium* a *Verticillium*. Nejčastěji bývají zachyceny také druhy *F. avenaceum* a *V. albo-atrum*, sporadicky druhy *F. graminearum* a *F. culmorum*. V půdě, která neobsahuje rostlinné zbytky jsou uvedené druhy zastoupeny minimálně. Z toho zjištění lze vyvodit závěr, že posklizňová zaorávka rostlinných zbytků hlouběji do půdy, která byla provedena v kontrolní konvenční variantě, měla významný fyto-sanitární účinek, neboť infikované posklizňové zbytky jsou po zapravení do půdy rozkládány a patogeny na zapravené organické hmotě nemohou být zdrojem infekce pro nově zakládáné porosty.

### b) Spektrum půdních mikromycet po aplikaci biopreparátu jako mořidla

Většina fytopatogenních hub zachycených u ozimé pšenice byla označena jako „původci systemické infekce“. Diagnostikované houby jsou přenášeny v zárodku semene jako perenující mycelium rozvíjející svou aktivitu po zasetí, kdy začíná prorůstat rostlinou. Mezi

ně patří přítomné houby rodů: *Fusarium*, *Verticillium*, *Oculimacula* (syn. *Pseudocercospora*), *Septoria* (syn. *Phaeosphaeria*), *Gaeumannomyces*, *Drechslera* (syn. *Helminthosporium*), *Alternaria*, *Typhula* a další.

Záchyty mikroskopických hub jsou na základě rozborů půdních vzorků uvedeny v tabulkách č.1, 2, 3 a 4

Tab. 1 Mikromycety diagnostikované v kontrolní variantě ve všech způsobech zpracování půdy (A, B, C) na počátku a na konci pokusu (CFU – colony forming unit = jednotka tvořící kolonie).

	Zachycená houba	Množství v % CFU na počátku pokusu	Množství v % CFU na konci pokusu
A	<i>Paecilomyces</i> spp.	30	30
	<i>Penicillium</i> spp.	20	20
	<i>Acremonium</i> spp.	20	20
	<i>Humicola</i> spp.	10	10
	<i>Fusarium oxysp.</i>	10	10
	<i>Fusarium aven.</i>	10	10
	<b>Celkem</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
B	<i>Acremonium</i> spp.	60	60
	<i>Paecilomyces</i> spp.	10	10
	<i>Penicillium</i> spp.	5	5
	<i>Pythium</i> spp.	5	5
	<i>Humicola</i> spp.	5	5
	<i>Diplodia</i> spp.	5	5
	<i>Fusarium aven.</i>	10	10
	<b>Celkem</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
C	<i>Paecilomyces</i> spp.	40	35
	<i>Acremonium</i> spp.	10	10
	<i>Penicillium</i> spp.	5	5
	<i>Humicola</i> spp.	10	10
	<i>Fusarium oxysp.</i>	5	5
	<i>Pythium</i> spp.	5	10
	<i>Fusarium aven.</i>	10	10
	<i>Fusarium culm.</i>	10	10
	<i>Colletotrichum</i> sp.	5	5
	<b>Celkem</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

Tab.2 Mikromycety, diagnostikované v půdě na variantách s klasickým zpracováním půdy(A).

Varianta	Zachycená houba	Množství v % CFU na	Množství
----------	-----------------	------------------------	----------

		počátku pokusu	v % CFU na konci pokusu
2	<i>Paecilomyces</i> spp.	30	40
	<i>Acremonium</i> spp.	20	20
	<i>Penicillium</i> spp.	15	5
	<i>Trichoderma</i> spp.	2,5	5
	<i>Humicola</i> spp.	5	5
	<i>Verticillium</i> spp.	2,5	5
	<i>Fusarium oxysp.</i>	12,5	10
	<i>Fusarium aven.</i>	12,5	10
	<b>Celkem</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
3	<i>Paecilomyces</i> spp.	30	40
	<i>Acremonium</i> spp.	20	30
	<i>Penicillium</i> spp.	10	10
	<i>Humicola</i> spp.	10	10
	<i>Fusarium oxysp.</i>	10	5
	<i>Fusarium aven.</i>	10	5
	<i>Fusarium culm.</i>	10	0
	<b>Celkem</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

Tab.3 Mikromycety diagnostikované v půdě s přímým výsevem do nezpracované půdy pokryté mulčem z předplodiny (B).

Varianta	Zachycená houba	Množství v % CFU na počátku pokusu	Množství v % CFU na konci pokusu
2	<i>Paecilomyces</i> spp.	40	40
	<i>Acremonium</i> spp.	30	30
	<i>Penicillium</i> spp.	5	5
	<i>Humicola</i> spp.	5	5
	<i>Fusarium aven.</i>	20	20
	<b>Celkem</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
3	<i>Paecilomyces</i> spp.	30	30
	<i>Acremonium</i> spp.	40	40
	<i>Humicola</i> sp.	10	5
	<i>Penicillium</i> spp.	5	5
	<i>Fusarium aven.</i>	15	20
	<b>Celkem</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

Tab. 4 Mikromycety diagnostikované v půdě s mēlce zpracovanou půdou se zapravenou rozdrčenou slámou předplodiny (C)

Variant a	Zachycená houba	Množství v % CFU na počátku pokusu	Množství v % CFU na konci pokusu
2	<i>Paecilomyces</i> spp.	30	35
	<i>Acremonium</i> spp.	40	35
	<i>Humicola</i> spp..	10	10
	<i>Pythium</i> spp..	5	15
	<i>Penicillium</i> spp.	5	2,5
	<i>Fusarium aven.</i>	10	2,5
	<b>Celkem</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
3	<i>Paecilomyces</i> spp.	30	25
	<i>Acremonium</i> spp.	30	30
	<i>Penicillium</i> spp.	10	10
	<i>Humicola</i> spp.	10	10
	<i>Pythium</i> spp.	10	20
	<i>Fusarium aven.</i>	10	5
	<b>Celkem</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

Z výsledků v tabulkách při porovnání aplikace jednotlivých biomořidel a kontroly bez ohledu na způsob zpracování vyplývá, že při použití moření na bázi antagonistické houby dochází ke snížení výskytu patogenů v porovnání s nemořenou kontrolou cca o 10 %. Významným zjištěním je také fakt, že během vegetace dochází ke snižování výskytu některých sledovaných patogenů v důsledku působení antagonistických vztahů účinné agens v ošetřených variantách v porovnání s variantou kontrolní.

Z uvedených tabulek je také patrné, že množství patogenu (*Fusarium avenaceum*) se na pozemcích s klasickým zpracováním půdy (A) na konci pokusu u některých patogenů mírně zvyšuje. Kdežto na variantách s minimalizačními technologiemi (B, C) zůstává počet patogenů přibližně na stejné úrovni. Tento fakt lze vysvětlit tím, že výchozí počty patogenů byly na počátku pokusu v kontrolní variantě s klasickým zpracováním nižší v porovnání s půdoochrannými technologiemi, protože zapravení infikovaných posklizňových zbytků snížilo infekční tlak na konvenčních parcelách na počátku pokusu.

## Diskuse

Rostlinné zbytky v půdě jsou živným substrátem pro půdní bakterie a mikroskopické patogenní houby. Je-li však rostlinný materiál dostatečně hluboko zaorán, dochází k jeho relativně rychlému rozkladu, čímž se snižuje potravní nabídka pro patogeny. Z dostupné literatury je známo, že i běžné půdní bakterie jako *Bacillus subtilis* a *Bacillus cereus* mohou mít antagonistický efekt k patogenním houbám (Omoifo a Ikotun, 2007). To se projevilo právě v kontrolní variantě s klasickým zpracováním sníženým počtem patogenů na počátku pokusu (tab. 2), jejichž zdrojem mohly být infikované posklizňové zbytky. V naší práci jsme využili účinku antagonistické houby *Trichoderma harzianum* k potlačení fytopatogenních hub přenosných půdou. Oproti neošetřeným variantám jsme zjistili přibližně 10% snížení počtu mikromycet (CFU). Značný praktický význam má redukce výskytu fytopatogenních hub rodů *Drechslera*, *Fusarium*, *Pseudocercospora* a *Septoria*. Získané výsledky jsou v souladu s literárními údaji (Jensen et al., 2000; Tagawa et al., 2010; Baturo 2006), které rovněž

potvrzují efektivní použití biopreparátů v ochraně rostlin proti houbovým chorobám fungujících na základě antagonistických vztahů patogena a účinného agens.

Co se týče souvislosti mezi způsobem, hloubkou a intenzitou zpracování půdy a výskytem chorob u pěstovaných plodin, je ve většině literárních prací deklarováno, že tato souvislost není nikdy jednoznačná. Je výrazná především v ročnících, kdy průběh počasí je příznivý vyšším výskytům chorob a kdy jejich škodlivost přesahuje hospodářsky únosnou hranici (Hůla et al., 2008, Lemanczyk a Lukanowski, 2000 a další). U technologií s intenzivnějším využíváním organické hmoty (conservation soil management) je nutno počítat s vyšším rizikem výskytu chorob, ale při dlouhodobějším využívání také zároveň s vyšší účinností samočisticí schopností půdy, většinou rovněž založené na antagonismu půdních mikroorganismů (Kollmorgen et al., 1991).

### **Závěr**

Z našich pokusů vyplývá, že využití biopreparátů jako mořidel má příznivý efekt na potlačení fytopatogenních hub v půdě, na snížení jejich infekčního potenciálu což se v kombinaci s dalšími faktory může projevit zvýšením hospodářského výnosu ozimé pšenice. Kromě zmíněného přímého efektu lze očekávat i možné snížení používaných chemických mořidel s nesporným příznivým účinkem na půdní prostředí. Úroveň vlivu biopreparátů v půdoochranných technologiích zpracování půdy bude možné vyhodnotit až v delších časových řadách.

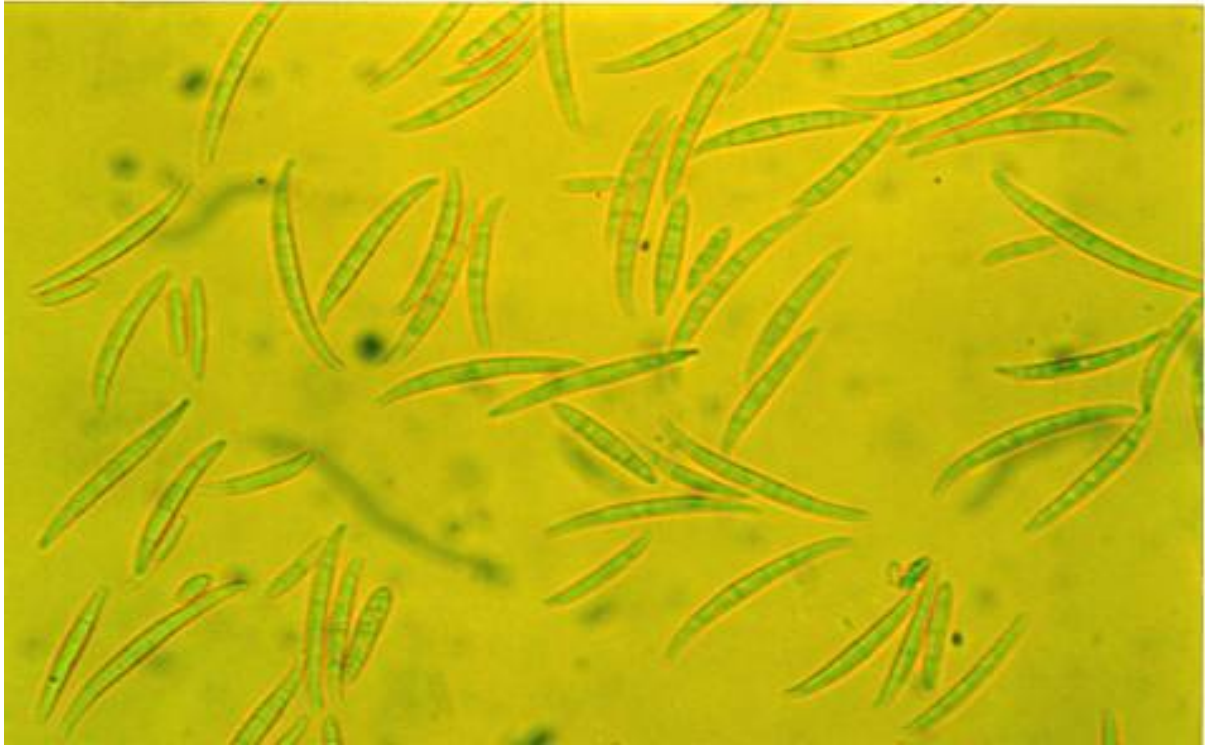
### **Poděkování**

Tento úkol byl podpořen výzkumným záměrem MZe ČR č. 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.
- Edwards S.G., Seddon B. (2008): Mode of antagonism of *Brevibacillus brevis* against *Botrytis cinerea* in vitro, *J.Appl.Biol.* 91: 652-659.
- Hůla J., Procházková B. a kol. (2008): Minimalizace zpracování půdy. Profi Press Praha.
- Kollmorgen, J.F. et al. (1991): Effects of cultivation on *Rhizoctonia* root rot, cereal cyst nematode, common root rot and yield of wheat in the Victorian Mallee. *Austr. J. Exp. Agr.* 27 : 419-423.
- Lemanczyk G., Lukanowski A. (2000): Fungal communities and health status of winter wheat roots cultivated after lupine and its mixtures. *Phytopatol. Polonica* 20: 139-154.
- Omoifo C., Ikotun T. (2007): Inhibition of growth of some plant pathogens by antagonistic Microorganisms. *J. Basic Microbiology* 27: 515-519.
- Tagawa M., Tamaki H., Manome A., Koyama O., Kamagata Y. (2010): Isolation and characterization of antagonistic fungi against potato scab pathogens from potato field soils. *FEMS Microbiology Letters* 305: 136-142.

Obrázek: Konidie semipatogenní houby *Fusarium avenaceum*, nejčastěji se vyskytující v půdě. Zvětšeno 500 x (foto J.Hýsek).





# Účinnost přípravků na bázi oleje ze semen *Pongamia glabra* Vent. na housenky *Plutella xylostella* L.

## Efficacy of botanical insecticides based on seed oil from *Pongamia glabra* Vent. against *Plutella xylostella* L. larvae.

BC. Roman Pavela

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Drnovská 507, 161 06 Praha 6 - Ruzyně, Czech Republic,  
e-mail: [pavela@vurv.cz](mailto:pavela@vurv.cz)

**Abstrakt:** Účinnost tří nových rostlinných insekticidů na bázi oleje ze semen *Pongamia glabra* byly porovnány na biologickou účinnost proti housenkám *Plutella xylostella* spolu se standardním přípravkem na bázi azadirachtinu. Všechny testované přípravky vykázaly dobrou účinnost na mortalitu larev. Přípravky s přidavkem esenciálních olejů byly však významně účinnější oproti samotnému pongamovému oleji. Nejúčinnější byl přípravek s esenciálním olejem z *Thymus vulgaris*, který způsobil 90-100% mortalitu v koncentracích 1,5 a 0,75% a byl stejně účinný, nebo i účinnější než standardní přípravek na bázi azadirachtinu. Přípravky zabránily žíru larev, takže poškození rostlin bylo do 10 % listové plochy.

**Klíčová slova:** rostlinné insekticidy; *Plutella xylostella*; pongamový olej; *Pongamia*; mortalita

**Abstract:** Efficacy of three newly developed botanical insecticides based on pongam oil and of a standard product based on azadirachtin against *Plutella xylostella* larvae is studied in this paper. All the tested botanical insecticides showed good efficacy on the mortality of *P. xylostella* larvae. In both formulations of products that contained essential oils, their biological efficacy increased significantly compared to the product containing only the *Pongamia pinnata* oil alone. This efficacy (for 1.5 and 0.75% concentrations) was clearly reflected not only in high larval mortality (90-100%), but also in the overall minimal plant damage due to *P. xylostella* larvae feeding (less than 10 %). The product with an addition of essential oil of *Thymus vulgaris* was evaluated to be most efficient considering that the same and/or higher efficacy was determined for this product as that for the standard product based on azadirachtin.

**Key words:** botanical insecticides; *Plutella xylostella*; Pongam oil; *Pongamia*; mortality

### Úvod

Zápředníček polní, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), je celosvětově důležitý škůdce brukvovitých rostlin, především pak košťálové zeleniny (Sarfraz et al., 2006).

Chemická ochrana proti tomuto škůdci je často málo účinná, protože je tento škůdce schopen ve velmi krátké době vyvinout rezistentní populace k jedné nebo více účinným látkám současných syntetických insekticidů. V literatuře jsou popsány rezistentní populace vůči skupině insekticidů na bázi carbamátů, organofosfátů, organochlorinů, pyrethroidů, růstových inhibitorů, pyrazolů, abamectinu, oxadiazinů, neonicotinoidů, ale i přípravků na bázi *Bacillus thuringiensis* a dalším (Shelton et al., 1993; Moham and Gujar, 2003; Abdel-Razek et al., 2006; Charleston et al., 2005; Qian et al., 2008, Zhao et al., 2006; Shelton et al., 2008). Kromě toho intenzivní používání pesticidů vede k dalším environmentálním

problémům, včetně zdravotních rizik spojených se zabudováváním pesticidních látek do potravního řetězce (Perry et al., 1998). Tyto a další problémy nás nutí snižovat chemizaci zemědělské výroby a hledat tak nové cesty v ochraně rostlin, které budou šetrnější k životnímu prostředí i k našemu zdraví. Rostlinné pesticidy (resp. insekticidy) včetně rostlinných extraktů, které obsahují biologicky aktivní látky obranného charakteru, jsou dnes na celém světě považovány jako jedna z ekologicky a zdravotně bezpečných alternativ ochrany kulturních plodin (Isman, 2000).

Jedním z příkladů rostlinných insekticidů je olej ze semen *Pongamia glabra* Vent (syn. *P. pinnata* L.; *Derris indica* Lamk.), z čeledi Leguminosae (Krishnamurthi, 1969). Celá rostlina obsahuje řadu biologicky aktivních látek, které se po staletí používaly a dosud používají v lékařství (Meera et al., 2003; Shoba and Thomas, 2001).

Semena obsahují 28–34% oleje (Sarma et al., 2005), který kromě mastných kyselin obsahuje i 5–6% flavonoidů (Bringi, 1987), z nichž nejvíce patří do skupiny furano-flavonoidů, jako je například karanjin, pongamol a diketone. Karanjin, který je v oleji obsažen 1–3%, je majoritní. Všechny furanoflavonoidy obsažené v oleji mají významné insekticidní, fungicidní a baktericidní účinky. (Parmar and Gulati, 1969; Pavela and Herda 2007a, b).

Tyto pesticidní účinky a environmentální a zdravotní bezpečnost, předurčují užití tohoto oleje jako rostlinné insekticidy pro ochranu rostlin v systémech biologického zemědělství. V České Republice je velmi málo přípravků vhodných do ekologického zemědělství, navzdory tomu je v současnosti v systému ekologického zemědělství zařazeno více jak 10% zemědělské půdy a počet ekofarem, spolu se zájem o ekologicky pěstované plodiny, rok od roku stoupá. Proto byl vládou České republiky podpořen výzkum, který si vytyčil za cíl vyvinout nové rostlinné insekticidy, které by byly environmentálně a zdravotně bezpečné a byly vhodné do systému ekologického zemědělství. V rámci řešení projektů byly vyvinuty 3 nové formulace na bázi emulgovaného oleje z plodů *P. pinnata*. První formulace byla na bázi samotného emulgovaného oleje získaného lisováním semen z *Pongamia pinnata*. Z literatury známé, že pongamový olej může synergicky působit s dalšími rostlinnými insekticidy, například na bázi azadirachtinu (Kumar & Singh, 2002; Srinivasa et al., 2002), nebo zvyšuje účinnost některých syntetických pesticidů, takže mohou být použity menší dávky (Vastrad et al., 2002; Rao & Dhingra, 1997). Při vývoji dalších formulací potenciálních přípravků jsme se zaměřili na možnost zvýšit účinnost využitím synergického účinku pongamového oleje s vybranými esenciálními oleji, u kterých byla známá jejich velmi dobrá insekticidní účinnost (Pavela, 2006 and 2009; Pavela et al., 2009a) a jejichž použití je možné v ekologickém zemědělství (Isman, 2000). Esenciální oleje získané z rostlin *Thymus vulgaris* L. a *Foeniculum vulgare* Mill vykazaly v předchozích testech velmi dobrou insekticidní účinnost a zároveň mají předpoklad zdravotní bezpečnosti (Carrubba and Catalano, 2009), proto byly formulace dalších dvou přípravků připraveny s přidavkem těchto esenciálních olejů.

V této práci byla studována účinnost tří nově vyvinutých botanicals insecticides a standardního přípravku na bázi azadirachtinu proti larvám *Plutella xylostella*.

## **Materiál a metody**

**Rostliny:** Rostliny zelí, *Brassica oleracea* convar. *capitata* L. var. Pandion F1 byly zasazeny v plastových květináčích (10 cm průměr) v běžném zahradním substrátu (Agro CS a.s., Česká Skalice). Hnojeny a zalévány byly průběžně podle potřeby. Pro pokusy byly použity rostliny 6 týdnů staré s 10–12 listy.

**Hmyz:** Larvy nebo dospělci *Plutella xylostella* byly odebrány z laboratorních chovů VÚRV. Laboratorní kolonie byly chovány na rostlinách zelí (*Brassica oleracea capitata* var. Stonehead) při pokojové teplotě (20 – 23°C) a fotoperiodě 16 h L : 8 h

## Přípravky

**P1** – emulgovaný (Tween 85) olej ze semen *Pongamia pinnata* L., obsah furanoflavonoidů jako účinných látek 18,92 g /l.

**P2** - emulgovaný (Tween 85) olej ze semen *Pongamia pinnata* L., obsah furanoflavonoidů jako účinných látek 18,92 g /l a esenciální olej z *Thymus vulgaris* (v dávce 15 g/l obsah thymolu jako účinné látky 15,1 g/l

**P3** - emulgovaný (Tween 85) olej ze semen *Pongamia pinnata* L., obsah furanoflavonoidů jako účinných látek 18,92 g /l a esenciální olej z *Foeniculum vulgare* (v dávce 15 g/l obsah *trans*-anetholu jako účinné látky 12,3 g/l.

**NA** - přípravek NeemAzal T/S<sup>®</sup> i (výrobce: Trifolio-M GmbH, Germany) olej z *Azadirachta indica* Juss. obsah účinné látky Azadirachtin-A 10.0 g/l.

### Účinnost přípravků na mortalitu larev

Skleníkové pokusy byly uskutečněny během let 2009 a 2010 v skleníku VÚRV. Vodní emulze výše uvedených rostlinných insekticidů byla aplikovaná v koncentracích 0,4; 0,75 a 1,5% w/v. Ošetření bylo provedeno pomocí zádového motorového postřikovače SOLO (Tlak 0.34 Mpa, dávka 500 l/ha). Ošetřeny byly vždy 4 náhodné bloky po 10 rostlinách umístěných náhodně na záhonech 1.2 x 5 m.

Po oschnutí byla provedena infestace definovaného počtu housenek *P. xylostella* (2.-3. instar). Rostliny byly zaizolovány a hodnocena byla mortalita 6. a 12. den od aplikace.

### Vliv na ovipozici a perzistenci účinnosti přípravků

Rostliny zelí byly ošetřeny shodně, podle metodiky popsané v 2.4.1. 4 hodin po ošetření bylo vždy 5 náhodně vybraných rostlin umístěno do klecí (60x60x50 cm). Následně bylo do klecí vypuštěno vždy 60 dospělců 5-7 dní starých. Po 2 dnech byly dospělci z klecí odstraněny a zároveň byl zjištěn počet nakladených vajíček na jednotlivých rostlinách. Na základě zjištěného počtu vajíček na ošetřených a neošetřených rostlinách byl vypočten index antiovipozice podle vzorce:  $IA (\%) = (C-T)/(C+T)*100$ , kde C je počet vajíček na neošetřených rostlinách a T počet vajíček na ošetřených rostlinách (Pavela et al., 2009b).

Rostliny byly ponechány v klecích a 16 den od ukončení kladení byl zjištěn počet živých larev a stupeň poškození rostlin žírem. Rozdíl mezi počtem nakladených vajíček a počtem živých larev byl považován jako larvální mortalita.

Pro odhadnutí poškození rostlin žírem lare byla u všech experimentů použita metoda vizuálního odhadu poškození pomocí 6 stupňové stupnice, kde 0=méně jak 10%, 1=10-25%, 2=25-50%, 3=50-75%, 4= 75-90% a více jak 90% poškozené listové plochy.

Všechny experimenty byly umístěny v klimatizovaném skleníku při  $22 \pm 5$  °C, vzdušné vlhkosti 65-82% a fotoperiodě 16L:8D. Zálivka byla v průběhu pokusů prováděna podle potřeby ke kořenům.

### Statistika

Mortalita byla upravena podle Abbotta (Abbott, 1925). Data byly předmětem analýzy ANOVA po transformaci arcsine, rozdíly mezi průměry byly analyzovány pomocí Tukeyova HSD testu ( $P < 0.05$ ).

### Výsledky

#### Účinnost přípravků na mortalitu larev

Účinnost přípravků na mortalitu larev *Plutella xylostella* je uvedena v Table 1. Po oba dva roky byla účinnost všech námi testovaných přípravků dobrá. Nicméně významné rozdíly byly nalezeny jak mezi použitými koncentracemi, tak mezi jednotlivými formulacemi přípravků. Účinnost všech přípravků se logicky snižovala v závislosti na aplikované koncentraci a

zvyšovala se v závislosti na čase (Table1). Nejvyšší mortalita byla zjištěna 12. den po aplikaci. V tuto dobu larvy na neošetřených rostlinách dokončovaly svůj vývoj a začaly se kuklit. Dvanáctý den po aplikaci byla, u obou přípravků s přidavkem esenciálních olejů z *T. vulgaris* (P2) a *F. vulgare* (P3), zjištěna mortalita vyšší než 90% u koncentrací 0.75 a 1.5 %. Při aplikaci přípravku o koncentraci 0.75% byla zjištěna účinnost přípravku P2 dokonce vyšší (100%) než u standardního přípravku (NA) na bázi azadirachtinu (95-97%) a to v obou letech. Nicméně tento rozdíl nebyl statisticky významný ( $P < 0.05$ ). I při aplikaci nejnižší koncentrace (0.4%) byla zjištěna mortalita larev u přípravku P2 okolo 90%, což bylo na stejné anebo vyšší úrovni v porovnání s NA. Přípravek P3 vykázal v obou letech v koncentraci 0.4% menší (72%) anebo stejnou (82%) účinnost jako NA. Nejméně účinný byl přípravek na bázi samotného emulgovaného oleje z *P. glabra* (P1), kdy se dvanáctý den od aplikace pohybovala mortalita u nejnižší použité koncentrace jen v rozmezí 35-42% a nejvyšší mortalita (75-78%) byla zaznamenána u nejvyšší použité koncentrace (1.5%).

Poškození rostlin žírem larev bylo zhodnoceno 12 den po aplikaci (Table1), kdy kontrolní rostliny byly poškozené více jak z 90% (4,8 a 4,9 bodů, pro roky 2009 a 2010, příslušně). Téměř žádné poškození anebo poškození okolo 10% bylo zjištěno pro všechny námi testované koncentrace a pro přípravky P2, P3 a NA. Pouze u přípravku P1 bylo zjištěno poškození mezi 25-50 %, nicméně i toto poškození rostlin bylo významně menší ( $P < 0.05$ ) v porovnání s kontrolou.

#### Vliv na ovipozici a perzistenci účinnosti přípravků

Vliv přípravků na zabránění kladení vajíček a následnou perzistenci účinku na mortalitu a poškození rostlin žírem larev *P. xylostella* je uvedena v Table 2.

V obou letech nebyl zjištěn významný antioviposiční účinek přípravků v námi provedených nevýběrových testech. Procento antiovipozice se pohybovalo jen okolo 20% a nebyl zjištěn ani průkazný rozdíl ( $P < 0.05$ ) mezi jednotlivými přípravky nebo mezi koncentracemi.

Významná však byla mortalita larev, která sice byla o něco nižší než při přímé aplikaci přípravků na larvy (Table1), přesto se pohybovala okolo 80 % pro aplikaci přípravků P2, P3 a NA a koncentraci 1.5 %. Po aplikaci 0.4% koncentrace byla sice zjištěna mortalita jen okolo 40% (pro přípravky P2, NA) anebo 23 a 33% (pro P3 a roky 2009 a 2010, příslušně), ale celkové poškození rostlin žírem larev (Table 2) bylo minimální a pohybovalo se od 0 do 25%. Významně nejnižší účinnost byla zjištěna u přípravku P1, kdy byla zjištěna v letech 2009 a 2010 mortalita larev 52 a 58 %, příslušně a to při aplikaci nejvyšší koncentrace (1.5%). Nicméně i po aplikaci nejnižší koncentrace přípravku P1 byla zjištěno významně nižší ( $P < 0.05$ ) poškození rostlin žírem (okolo 50%) v porovnání s kontrolními rostlinami, kde bylo poškozeno více jak 90% listové plochy.

#### **Diskuse**

Tato práce přináší první informace o biologické účinnosti tří nových formulací rostlinných insekticidů proti larvám závažného škůdce brukvovité zeleniny *Plutela xylostella*. Všechny námi testované přípravky vykázaly dobrou účinnost na mortalitu larev *P. xylostella*. Nicméně, rozdíly v účinnosti byly zjištěny. U obou formulací přípravků, které obsahovaly esenciální oleje, se významně zvýšila jejich biologická účinnost oproti přípravku, který obsahoval pouze samotný olej z *P. glabra*. Tato účinnost byla patrná nejen ve vysoké mortalitě larev, ale také v celkovém minimálním poškození rostlin žírem larev *P. xylostella*. Jako nejúčinnější byl vyhodnocen přípravek s přidavkem esenciálního oleje z *Thymus vulgaris*, u kterého byla zjištěna stejná anebo vyšší účinnost, jako u standardního přípravku na bázi azadirachtinu.

Námi použitý esenciální olej z tymiánu obsahoval jako majoritní složku phenol thymol, u kterého byla prokázána jak dobrá insekticidní účinnost proti mnoha škůdcům (Isman, M.B., 2000; Pavela, 2007 a 2008) tak synergický účinek s dalšími terpeny (Hummelbrunner and

Isman, 2001; Pavela, 2008; Al-Bayati, 2008). Je tedy možné, že thymol v kombinaci s dalšími polyphenols, které jsou součástí oleje z *P. glabra* (Meera, 2003) působí synericky a tím zvyšuje jejich insekticidní a antifidantní účinnost (Kumar and Singh, 2002; Parmar and Gulati, 1969). Nicméně tuto hypotézu je nutné experimentálně ověřit. Navíc, subletální dávky esenciálního oleje z *T. vulgaris* mohou významně snížit vitalitu a plodnost dospělců škůdců následné generace (Pavela, 2007) a tak nepřímo snížit celkový počet škůdců v další generaci.

U oleje z *Pongamia glabra* je znám repelentní a anti-ovipoziční vliv na mnohé škůdce (Kumar and Singh, 2002). Ačkoliv jsme například v předchozích pracích zjistili významný antiovipoziční účinek proti *Trialeurodes vaporariorum* (Pavela and Herda, 2007a,b), v současných testech se proti dospělcům *P. xylostella* tento fenomén nepotvrdil (Table 2). To mohlo být zapříčiněno mimo jiné, také způsobem kladení vajíček. V našich testech *Plutella xylostella* kladla vajíčka především na báze řapíků listů a stonku, kde bylo ulpění přípravků minimální. *T. vaporariorum* však klade vajíčka přímo na spodní stranu listů, které byly ošetřeny a mohl se tak projevit anti-ovipoziční a repelentní účinek sekundárních metabolitů obsažených v oleji z *P. glabra* (Kumar and Singh, 2002; Meera, 2003).

Perzistence námi testovaných přípravků byla relativně dobrá (Table 2). Přípravky aplikované před kladením vajíček si podržely svoji účinnost minimálně týden, což je přibližná doba potřebná k vylíhnutí larev z vajíček. Je tedy možné použít přípravky nejen pro přímou aplikaci na škůdce, ale i jako preventivní postřik, který snižuje celkové poškození rostlin žírem larev *P. xylostella*. Dobrá perzistence účinků oleje z *P. glabra* byla zjištěna i pro *Trialeurodes vaporariorum*, kdy ještě 12tý den od aplikace oleje o koncentraci 2 až 0,5% byl zjištěn antiovipoziční účinek větší než 50% (Pavela and Herda, 2007 a, b). Nicméně je potřeba podotknout, že experimenty byly provedeny ve skleníku, kde jsou eliminovány vlivy prostředí (např. vysoké srážky, UV záření), které mohou nastat při pěstování rostlin v polních podmínkách a které mohou degradovat biologicky aktivní látky a tím významně snížit účinnost přípravků.

Na závěr je dobré zdůraznit, že přípravky na bázi extraktů z námi použitých rostlin jsou považovány za environmentálně a zdravotně bezpečné a je možné je doporučit do systému biologického pěstování rostlin. Toto tvrzení pramení jak ze známého praktického používání těchto rostlin a jejich extraktů v potravinářství, lékařství a kosmetice (Kirtikar and Basu, 1995), tak z mnoha experimentů, které zkoumaly vliv na necílové organismy a životní prostředí (Isman, 2000; Kumar and Singh, 2002; Charleston et al., 2005).

Navíc, jak bylo zjištěno jinými autory, některé extrakty (které obsahují podobné látky, jež jsou obsaženy také v oleji z *P. pinnata*), mohou přilákat více přirozených nepřátel larev *P. xylostella* (Charleston et al., 2006) a tím zvýšit přirozenou parazitaci larev.

Na základě výsledků prezentovaných v této práci, je možné doporučit formulaci přípravku na bázi kombinace olejů z *Pongamia pinnata* a *Thymus vulgaris* pro ochranu brukvovité zeleniny proti larvám *Plutella xylostella*.

#### **Poděkování:**

Práce byla finančně podpořena výzkumným záměrem č. MZE002700604.

#### **Literatura**

Abdel-Razek A.S., Abbas M.H., El-Khouly M., Abdel-Rahman A. (2006): Potential of microbial control of diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus), (Lepidoptera: Plutellidae) on two cabbage cultivars under different fertilization treatment. J. Appl. Sci. Res. 2: 942–948.

- Abbott W.S. (1925): A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Al-Bayati F.A. (2008): Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 116: 403-406.
- Bringi N.V. (1987): *Non-traditional Oil seeds and Oils in India*, New Delhi, India, Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. Ltd.
- Carrubba A., Catalano C. (2009): Essential oil crop for sustainable agriculture – A review. In: Lichtfouse, E. (ed.), *Climate Change, Intercropping, Pest Control and Beneficial Microorganisms, Sustainable Agriculture Reviews 2*: Springer Science + Business Media B.V.: 137-187.
- Charleston D.S., Kfir R., Dicke M., Vet L.E.M. (2005): Impact of botanical pesticide derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on the biology of two parasitoid species of the diamondback Moth. *Biological Control*. 33: 131-142.
- Charleston D.S., Kfir R., Dicke M., Vet L.E.M. (2006): Impact of botanical extracts derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on populations of *Plutella xylostella* and its natural enemies: A field test of laboratory findings. *Biological Control*. 39: 105-114.
- Eigenbrode S.D. (1993): Insecticide resistance of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) in North America. *Journal of Economic Entomology*. 86: 11-19.
- Hummelbrunner L.A., Isman M.B. (2001): Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 715-720.
- Isman M.B. (2000): Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19: 603-608.
- Kirtikar K.R., Basu B.D. (1995): *Indian Medicinal Plants*, International Book Distributors, vol. 1, second ed. Dehradun, India.
- Krishnamurthi A. (1969): *The Wealth of India*. Vol. VIII. Publication and Information Directorate. New Delhi, India, CSIR.
- Kumar M., Singh R. (2002): Potential of *Pongamia glabra* Vent as an insecticide of plant origin. *Biological Agriculture and Horticulture*. 20: 29–50.
- Meera B., Kuma, S., Kalidhar S.B. (2003): A review of the chemistry and biological activity of *Pongamia pinnata*. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science*. 25: 441-465.
- Parma, B.S., Gulati K.C. (1969): Synergists for pyrethrins (II)-karanjin, *Indian Journal of Entomology*. 31: 239–243.
- Pavela, R., 2006. Insecticidal activity of essential oils against cabbage aphid *Brevicoryne brassicae*. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 9(2): 99-106.
- Pavela R. (2007): Lethal and sublethal effects of thyme oil (*Thymus vulgaris* L.) on the house fly (*Musca domestica* Lin.). *Journal of Essential Oils -Bearing Plants*, 10(5): 346-356.
- Pavela R., Herda G. (2007a): Effect of pongam oil on adults of the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Trialeurodidae). *Entomologia Generalis*. 30 (3): 193-201.
- Pavela R., Herda G. (2007b) : Repellent effects of pongam oil on settlement and oviposition of the common greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* on chrysanthemum. *Insect Science* 14: 219-224.

- Pavela R. (2008): Acute and synergistic effects of some monoterpenoid essential oil compounds on the house fly (*Musca domestica* L.) Journal of Essential Oils -Bearing Plants. 11 (5): 451-459.
- Pavela R., Vrchotova N., Triska J. (2009a): Mosquitocidal activities of thyme oils (*Thymus vulgaris* L.) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Parasitology Research. 105 (5): 1365-1370.
- Pavela R., Sajfrtova M., Sovova H., Karban J., Barnet M. (2009b): The effects of extracts obtained by supercritical fluid extraction and traditional extraction techniques on larvae *Leptinotarsa decemlineata* SAY. Journal of Essential Oil Research, 21 (4): 367-373.
- Pavela R. (2009): Larvicidal property of essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) Industrial Crops and Products, 30 (2): 311-315.
- Perry A. S., Yamamoto I., Ishaaya I. and Perry R. Y. (1998): Insecticides in Agriculture and Environment. Berlin, Springer-Verlag.
- Qian L., Cao G., Song, J., Yin Q., Han Z. (2008): Biochemical mechanism conferring crossresistance between tebufenozide and abamectin in *Plutella xylostella*. Pesticide Biochemistry and Physiology. 91: 175-179.
- Rao G.R., Dhingra S. (1997): Synergistic activity of some vegetable oils in mixed formulations with cypermethrin against different instars of *Spodoptera litura* Fabricius. Journal of the Entomological Research. 21: 153-160.
- Sarma A.K., Konwer D., Bordoloi P.K. (2005): A comprehensive analysis of fuel properties of biodiesel from Koroch seed oil. Energy Fuels. 19: 656-657.
- Sarfraz M., Dossdall L.M., Keddie B.A. (2006): Diamondback moth–host plant interaction: Implication for pest management. Crop. Protection. 25: 625-639.
- Shelton, A.M., Wyman, J.A., Cushing, N.L., Apfelbeck, K., Dennehy, T.J., Mahr, S.E.R., Shelton A.M., Hatch S.L., Zhao J.Z., Chen M., Earle E.D., Cao, J. (2008): Suppression of diamondback moth using Bt-transfergenic plants as a trap crop. Crop Protection. 27: 403-409.
- Shoba G.F., Thomas M. (2001): Study of antidiarrhoeal activity of four medicinal plants in castor-oil induced diarrhoea. Journal of Ethnopharmacology. 76 (1): 73-76.
- Srinivasa Rao N., Rajendran R., Raguraman S. (2003): Laboratory assessment of the potentiation of neemextract with the extracts of sweet-flag and pungam on bhendi shootand fruit borer, *Earias vitella* (Fab.). Trivandrum. 28: 277-281.
- Vastrad, A.S., Lingappa, S. and Basavanagoud, K., 2002. Vegetable oils as synergists of synthetic pyrethroids against diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Yponomeutidae: Lepidoptera). Journal of the Entomological Research (New Delhi), 26: 285–290.
- Moham M., Gujar G.T. (2003): Local variation in susceptibility of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) to insecticides and role of detoxification enzymes. Crop Protection. 22: 495-504.
- Zhao J.Z., Collins H.L., Li Y.X., Mau R.F., Thompson G.D., Hertlein M.S., Andalaro J.T., Boyken R., Shelton A.M. (2006): Monitoring of diamondback moth resistance to spinosad, indoxacarb and enamectin benzoate. Journal of Economic Entomology. 99: 176-181.

## Supresivní vliv křídlatky a dalších vybraných rostlinných druhů na klíčivost a nekrósu listů

### Suppressive effect of Knotweed and other selected plant species on the germination and foliar necrosis

RNDr. Božena Šerá, PhD.<sup>1</sup>, Ing. Eva Plachká<sup>2</sup>, RNDr. Naděžda Vrchotová, CSc.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav systémové biologie a ekologie AV ČR, Na Sádkách 7, České Budějovice, CZ-37005

<sup>2</sup>OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., pracoviště Opava, Purkyňova 10, Opava, CZ-74601

#### Abstrakt

Vybrané rostlinné druhy křídlatka sachalinská (*Reynoutria sachalinensis*), kmín kořený (*Carum carvi*), jerlín japonský (*Sophora japonica*) a netýkavka žlaznatá (*Impatiens glandulifera*) byly použity pro testování toxických účinků na modelových druzích hořčice bílé (*Leucosinapis alba*) a řepce olejce (*Brassica napus*). Byly použity dva typy testů. Zaprvé byl testován růst semen modelových druhů v půdě smíchané s nadzemními částmi vybraných druhů rostlin. Zadruhé byly listy modelových rostlin ošetřeny extrakty z vybraných druhů rostlin a infikovány izolátem *Leptosphaeria maculans*.

Reakce na působení vybraných druhů rostlin v půdním substrátu byla u hořčice bílé a řepky olejky srovnatelná. Vyšší fytoxicita byla zaznamenána u listů křídlatky sachalinské a plodů kmínu kořeného. Relativně nízká byla při použití substrátu s kůrou jerlín japonského. U ošetření listů modelových rostlin a následné inokulace izolátem patogena *Leptosphaeria maculans* byly u hořčice bílé zaznamenány menší velikosti lézí ve srovnání s řepkou olejkou. Působení extraktů testovaných čtyř rostlinných druhů na list vykazovalo jinou citlivost než při jejich použití v půdním substrátu.

**Klíčová slova:** *Leptosphaeria maculans*, křídlatka sachalinská, netýkavka žlaznatá, jerlín japonský, kmín kořený, řepka olejka, hořčice bílá, toxicita.

#### Abstract

Selected plant species *Reynoutria sachalinensis*, *Carum carvi*, *Sophora japonica* and *Impatiens glandulifera* was used for testing the toxic effects on the model species of white mustard (*Leucosinapis album*) and oilseed rape (*Brassica napus*). Two types of test were used. First, the growth of seeds was tested on the model species in the soil mixed with the various aboveground parts of selected plants. Second, leaves of the model plants were treated with extracts from selected plant species and with the pathogen of *Leptosphaeria maculans* isolate.

The reaction to the impact of selected plant species in the soil substrate was analogue in both of white mustard and oilseed rape. Greater phytotoxicity was recorded for the leaves of *Reynoutria sachalinensis* and the fruits of *Carum carvi*. Small phytotoxicity was relatively low when the substrate with the tree bark of *Sophora japonica* was used. After the treatment of the plant extract and the inoculation of the isolate, smaller lesions were recorded in the white mustard compared with the oilseed rape. Effects of extracts from the four tested plant species on plant leaves presented a different sensitivity in comparison to the soil substrate test.

**Key words:** *Leptosphaeria maculans*, *Reynoutria sachalinensis*, *Carum carvi*, *Sophora japonica*, *Impatiens glandulifera*, *Leucosinapis album*, *Brassica napus*.



## Úvod

Patogen *Leptosphaeria maculans* anamorfa *Phoma lingam* je původcem významné choroby řepky olejky světového významu fomové hniloby brukvovitých. Infikuje listy, stonky a kořeny brukvovitých rostlin a je původcem nouzového dozrávání kulturních brukvovitých olejnin – suché hniloby kořenů. Na základě virulence patogena, která se projevovala různou intenzitou příznaků na hostitelské rostlině, byly na řepce klasifikovány dva druhy *Leptosphaeria* spp. Druhý druh *L. biglobosa* je původcem listových skvrnitostí jako *L. maculans* a je hlavní příčinou stonkových lézí. Infekce rostlinných pletiv je ale pouze povrchní (Plachká & Odstrčilová, 2007).

Cílem této práce bylo otestovat inhibiční účinnost na patogen *Leptosphaeria maculans* extrakty z listů křídlatky sachalinské v porovnání s dalšími rostlinnými druhy. Byly vybrány druhy, které byly použity jako potenciální zdroje biostimulátorů a induktorů rezistence pro obiloviny (Věchet et al. 2009).

Výsledky našich předcházejících pokusů týkajících se vlivu druhů rodu křídlatka na jiné rostliny a na živočichy byly prováděny na semenech hořčice bílé (Vrchotová & Šerá, 2008, Šerá et al. 2008) a na housenkách *Spodoptera littoralis* (Pavela et al., 2008). Vůči těmto organismům byla zjištěna výrazná toxicita všech tří druhů křídlatek. Z různých částí testovaných křídlatek byly nejtoxičtější listy křídlatky sachalinské. Z literatury je také známo, že extrakty z křídlatky sachalinské působí proti padlí na zelenině (Konstantinidou-Doltsinis & Schmitt, 1998; Fofana et al., 2002; Bardin et al., 2008). Křídlatky obsahují řadu látek, které mají fungicidní a/nebo antibakteriální vlastnosti. Bylo zjištěno, že to jsou především stilbeny, fenolické kyseliny, katechiny, anthrachinony (Inoue et al., 1992; Vastano et al., 2000; Yang, 2001; Vrchotová et al., 2004; 2005, 2007).

Testy s extrakty z listů netýkavek (*Impatiens glandulifera*, *I. noli-tangere*, *I. parviflora*) prováděné na semenech hořčice bílé prokázaly ještě vyšší toxicitu než extrakty z křídlatek (Krejčová et al. 2007). Extrakty vykazují též insekticidní aktivitu (Pavela et al., 2009). Hlavními složkami extraktů jsou deriváty kyseliny kávové, flavonoly a naftochinony (Šerá et al., 2005).

## Materiál a metody

### Přehled vybraných rostlinných druhů a jejich stručné charakteristiky:

Křídlatka sachalinská (*Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai) je nepůvodním druhem, který pochází ze Sachalinu (Hejný & Slavík, 1993; Kubát et al. 2002). Tato trvalka je velmi výrazným prvkem v krajině, protože vytváří monodruhové porosty připomínající vysoké křoví, patří mezi invazní rostliny (Pyšek et al. 2002).

Netýkavka žlaznatá (*I. glandulifera* Royle) je dalším invazním druhem, který pochází z pohoří Himaláje. Tato jednoletka vyniká svou výškou (1-3 metry), červeno fialovými květy a hustými porosty kolem vodních toků. Roste na březích vodních toků.

Kmín kořený (*Carum carvi* L.) patří mezi dvouletky a je na rozdíl od předchozích druhů cíleně pěstován jako koření a pro farmacii. Kmín se na našem území užívá již od středověku. Používanou částí je dvounažka, která obsahuje několik desítek různých silic. Nejvíce je zastoupen karvon a limonen (Laribi et al., 2009), dále deriváty kvercetinu a kemferolu ([www.ars-grin.gov/duke/](http://www.ars-grin.gov/duke/)). Karvon se používá k potlačení rašení brambor při skladování, má fungicidní a antibakteriální vlastnosti (Oosterhaven et al., 1995). Také má repelentní účinky na komáry a testují se jeho pesticidní vlastnosti (de Carvalho & da Fonseca, 2006). Limonen má podobné vlastnosti jako karvon, je patentován jako pesticid (EPA-738-F-94-030 September 1994).

Strom jerlín japonský (*Sophora japonica* L.) je původem z Asie. V evropských městech je často vysazován a cíleně pěstován. Je to velmi oblíbená parková dřevina. Jerlín obsahuje hlavně flavonoly (deriváty kvercetinu a kemferolu), které se řadí mezi významné antioxidanty (Lachman et al., 2000). Byly testovány i insekticidní vlastnosti např. na *Monomachus alternatus* (Li et al., 2007).

Taxonomické označení rostlin bylo sjednoceno podle Kubát et al. (2002).

### Získání rostlinného materiálu

Semena modelových rostlin hořčice bílé (*Leucosinapis alba* POLARKA) a řepky olejky (*Brassica napus* BENEFIT) byla získána od Výzkumného ústavu olejin v Opavě. Hodnoty klíčení obou druhů v době použití byly vyšší jak 95%. Klíčivost byla zjištěna kontrolním výsevem 100 semen v laboratorních podmínkách za použití Petriho misek, filtračních papírů a destilované vody.

Listy křídlatky a netýkavky byly získány sběrem na přirozených lokalitách v okolí Č. Budějovic na podzim roku 2008. Kůra z jerlínu japonského byla sbírána v městském prostředí (Opava) na podzim roku 2008. Nažky kmínu (*Carum carvi* KEPRON) byly získány od Výzkumného ústavu olejin v Opavě. Všechny tyto vzorky z vybraných druhů rostlin byly sušeny a následně skladovány ve tmě při laboratorní teplotě (cca 21°C). Před použitím byly rozdrčeny v kolovém mlýnku na prachové částice a smíchány s půdou (viz Pokus s půdními substráty). Přehled o vybraných rostlinných druzích přináší Tab. 1.

### Rostlinné extrakty

Extrakty byly připravovány z nažek kmínu kořeného, ze sušené kůry jerlínu japonského, sušených listů křídlatky sachalinské a ze sušených listů netýkavky žláznaté. Navážka každého rostlinného materiálu byla 100g a tento materiál byl extrahován 850 ml 20% ethanolu (ethanol čistoty p.a.). Extrakce probíhala pět dní, ve tmě a při laboratorní teplotě za častého intenzivního protřepávání. Poté byly extrakty přefiltrovány přes skleněné filtry a do doby použití uchovávány v chladu a ve tmě.

### Pokus s půdními substráty

Půdní substrát byl získán smícháním dvou základních složek zahradní a květinová zeminy (výrobce Rašelina Soběslav) a písku v poměru 2:1. Před smícháním byly použité složky prosáté přes síto 3 x 3 mm. Základní složky nebyly hnojeny ani sterilizovány. Směs byla doplněna mletým vápencem v množství 3 g na 5 l substrátu a rozdrčenými vybranými rostlinnými druhy v množství 7 g na 5 l substrátu (každý druh zvlášť). Tímto způsobem vznikly čtyři typy půdních substrátů. Pátý kontrolní byl bez přidání vybraných rostlinných druhů.

Tímto substrátem byly naplněny plastové kořenáče 4 x 4 x 6 cm tak, aby každý obsahoval 30 ml substrátu. Kořenáče se substrátem obsahujícím listí jednoho druhu rostliny byly umístěny na společný zavlažovací táč. Na každý zavlažovací táč s kořenáči bylo před aplikací semen nalito 750 ml deionizované vody, aby připravený substrát byl dostatečně provlhčený.

Semena modelových druhů byla vkládána na povrch substrátu a lehce zatlačena. Použito bylo 10 semen na jeden kořenáč. Pro jeden půdní substrát bylo připraveno 30 kořenáčů na jednom zavlažovacím tácu (pro jeden vybraný rostlinný druh a jeden modelový druh semen). Semena klíčila v režimu den/noc, průměrná teplota ve dne byla 18°C a v noci 10°C. Substrát byl průběžně zaléván odspoda do zavlažovacích táčů, množství vody bylo pro každý táč stejné. Semena byla inkubována v temperovaném skleníku deset dnů na podzim 2009. Vzrostlé semenáčky byly poté jednorázově sklizeny, spočítány, usušeny při pokojové teplotě (cca 21°C) a zváženy na analytických laboratorních vahách s citlivostí 0,0001 g. Zahrnuty byly pouze vitální klíčící rostliny, které měly plně vyvinuté děložní lístky.

Pro hodnocení vlivu jednotlivých substrátů na růst semen modelových rostlin byla použita dvoucestná ANOVA (s opakováním, vyvážený design, pevné faktory substrát a semeno), do které byla zahrnuta data z kontrol. Faktor substrát zahrnoval typ substrátu z vybraných druhů rostlin (křídlatka sachalinská, netýkavka žláznatá, kmín kořený, jerlín japonský, kontrola). Faktor semeno zahrnoval modelové rostliny hořčice bílou a řepku olejku. Závislými proměnnými byly počet a hmotnost semenáčků vyrostlých z půdních. Podrobné otestování jednotlivých pokusných variant navzájem bylo provedeno jednocestnou ANOVou a poté byl použit Tukey HSD test mnohonásobného porovnání. Všechny statistické testy byly provedeny na hladině významnosti 0,05. Data byla analyzována ve statistickém programu STATISTICA (1999).

### Pokus s nekrózou listů

Rostliny modelových druhů (hořčice bílá a řepka olejka) byly vypěstovány výsevem do půdního substrátu v sadbovačích umístěných v klimaboxu (Klimabox 1300, výrobce Kovodružstvo Slaný v.d.). Pokus probíhal na podzim roku 2009. Po celou dobu trvání testů byl nastaven stejný světelný a teplotní režim. Světelný režim byl 12 hodin den a 12 hodin noc. Světelný režim byl  $21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  den a  $17^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  noc.

Mladé rostliny modelových druhů byly ve fázi děložních listů ošetřeny extrakty z jerlínu japonského, kmínu kořeného, křídlatky sachalinské, netýkavky žláznaté (viz výše). Jednalo se o foliární ošetření 10% roztokem jednotlivých extraktů v množství 10 ml na 14 rostlin. Třetí den po ošetření byla provedena umělá inokulace děložních listů modelových rostlin roztokem spor patogena *Leptosphaeria maculans* v dávce 1  $\mu\text{l}$  na 1 vpich. Na jedné rostlině byly provedeny 4 inokulační vpichy (2 na jeden děložní list). Inokulát byl připraven stěrem spor ze čtyř týdenní kultury patogena na pevné živné půdě PDA (Potatoes Dextrose Agar) na Petriho misce. Přítomnost spor byla potvrzena mikroskopicky. Hustota spor nebyla stanovena. Zdroj patogena byl získán sběrem rostlinných pletiv s příznaky napadení patogenem z porostů řepky na území ČR a jeho následnou izolací. Izolace patogena byla provedena opakovanou kultivací na pevné živné půdě ve sterilních podmínkách. Po umělé inokulaci byly rostliny na 2 dny zakryty plastovým krytem pro zajištění vyšší relativní vlhkosti vzduchu.

Deset dní po umělé inokulaci bylo provedeno hodnocení nekróz listů. Nekrózy na listech byly zařazeny do šesti stupňů (Tab. 2). K hodnocení nekróz byla jako výchozí zdroj použita metoda podle práce Delwiche (1980) Získaná početní zastoupení jednotlivých nekrotických změn po použití testovaných extraktů byla vyhodnocena pomocí poměrného zastoupení vzhledem k umělé inokulaci.

## **Výsledky**

### Pokus s půdními substráty

Při použití dvoucestné ANOVy byl zaznamenán významný vliv pouze u použitého substrátu a to jak pro počet vyklíčených semen, tak pro hmotnost jejich sušiny ( $F=19,45$ ,  $P<10^{-13}$ ;  $F=12,51$ ,  $P<10^{-5}$ ). Faktor semeno a interakce mezi substrátem a semenem významné nebyly.

Počet vyklíčených semen hořčice bílé se významně lišil mezi různými substráty navzájem ( $F=8,26$ ,  $P<10^{-5}$ ). Největší rozdíl vzhledem ke kontrole byl zaznamenán u substrátu s přimíchaným listím křídlatky sachalinské (rozdíl 19%,  $P<10^{-4}$ ) nebo netýkavky žláznaté (rozdíl 12%,  $P<0,05$ ). Obdobné výsledky byly zaznamenány pro počet vyklíčených semen řepky olejky. Mezi testovanými substráty byl zaznamenán významný rozdíl ( $F=12,98$ ,  $P<10^{-8}$ ). Výrazně nižší počet semenáčků vzhledem ke kontrole měly substráty s příměsí listí křídlatky sachalinské (rozdíl 24%,  $P<10^{-4}$ ), plodů kmínu kořeného (rozdíl 19%,  $P<10^{-4}$ ) a listí netýkavky žláznaté (rozdíl 12%,  $P<0,01$ ). Výsledky jednocestné ANOVy jsou

sumarizovány v Tab. 3. Grafické znázornění rozdílů mezi jednotlivými typy substrátů a použitých modelových semen přináší Obr. 1.

Hmotnost sušiny mladých rostlinek hořčice bílé se významně lišil mezi různými substráty navzájem ( $F=6,81$ ,  $P<0,01$ ). Signifikantní rozdíl mezi kontrolou a testovanými substráty byl zaznamenán pouze u substrátu s plody kmínu kořeného (rozdíl 37%,  $P<0,01$ ). Hmotnost sušiny mladých rostlinek řepky olejky se také významně lišil mezi různými substráty navzájem ( $F=8,56$ ,  $P<0,001$ ). Výrazně nižší hmotnost semenáčků vzhledem ke kontrole měl pouze substrát s příměsí listů křídlatky sachalinské (rozdíl 36%,  $P<0,001$ ). Výsledky jednocestné ANOVY jsou sumarizovány v Tab. 1. Grafické znázornění rozdílů hmotností mladých rostlinek hořčice bílé a řepky olejky, vyrostlými v různých typech substrátů, přináší Obr. 2.

### Pokus s nekrotizací listů

Při ošetření listů modelových rostlin byly sledovány obdobné nekrotické změny podobné jako při použití čisté inokulace izolátem patogena *Leptosphaeria maculans*. Ošetření listů rostlinnými extrakty vedlo po inokulaci patogena ve všech případech k nekrotickým změnám na děložních listech (Obr. 3 a 4).

U hořčice bílé byly největší nekrotické změny zaznamenány po infekci inokulem LEPTMA (poměr stupňů nekrotizace III:II = 57:43). Srovnatelně stejná odezva byla u listů s použitím extraktu z kůry j. japonského (III:II = 52:48). Naopak relativně nízká infekce byla zaznamenána po ošetření extraktem z listů k. sachalinské (III:II = 36:64). Vyšší stupně nekrotizace než III (Tab. 2) nebyly na listech hořčice bílé zaznamenány.

U řepky olejky byly nekrotické změny po použití čistého inokula v poměru stupňů IV:III:II = 31:43:26. Prudké reakce byly zaznamenány po infekci extraktu z kůry j. japonského (IV:III:II = 52:38:10) a extraktu z listů k. sachalinské, kde byly zaznamenány i nekrotické změny stupně (Tab. 2). Poměr stupňů byl V:IV:III:II = 2:39:54:5. Nejméně destruktivní reakce byla zaznamenána po použití extraktu z listů n. žlaznaté (IV:III:II = 29:65:6).

### **Diskuse**

Je zjevné, že každá z použitých modelových rostlin, byť jsou ze stejné čeledě brukvovitých, nejsou stejně citlivé na použité substráty (pokuse s půdními substráty) a extrakty (pokuse s nekrotizací listů). Různá odezvy byly zaznamenány především v pokusu s inokulem patogena. Řepka olejka vykazovala citlivější reakce než hořčice bílá (Obr. 3 a 4).

Velmi důležitou roli měl způsob aplikace rostlin, jejichž toxicita byla testována. V půdních pokusech, kde byly použity neextrahované části rostlin (rostlinný materiál byl jen rozdrcen), byly nejtoxictější křídlatka sachalinská a kmín kořený. Kůra jerlínu prakticky žádnou toxicitu nevykazovala. Naopak, v inokulačních testech jerlín vykazoval větší toxicitu než ostatní rostliny.

Tento rozdíl je způsoben obsahovými látkami v rostlinném materiálu a jejich schopností uvolňovat se do půdy a pronikat do testovaných semen. Samozřejmě svou roli mohou hrát i půdní mikroorganismy a další půdní faktory (Klejduš & Kubáň, 1999). Při inokulaci jsou přímo do listů aplikovány extrakty, které obsahují převážně látky dobře rozpustné ve vodě. Testované rostliny mají různé složení a různý obsah sekundárních metabolitů a extrakty obsahují jen část metabolitů.

Například celý rostlinný materiál nažek kmínu obsahuje řadu terpenoidů, které vykazují silné fungicidní a pesticidní vlastnosti, ale při extrakci 20% ethanolem však do extraktu přejde jen velmi málo těchto látek. Domníváme se tedy, že malý obsah těchto látek v extraktu má za následek snížení toxicity kmínu v inokulačních testech. U jerlínu je asi důležité to, že

používáme kůru, z které se v půdních podmínkách hůře vyplavují (uvolňují) metabolity, než z měkčích pletiv jako jsou například listy.

Při testech může hrát roli i elicitace. To znamená, že látky obsažené v rostlinných extraktech nemusí přímo působit na patogena, ale mohou stimulovat v řepce nebo hořčici zvýšenou syntézu metabolitů, které se podílejí na obranyschopnosti rostliny vůči patogenům.

### Poděkování

Tato práce byla finančně podpořena grantem Ministerstva zemědělství ČR č. QH72117 a výzkumným záměrem ÚSBE AV ČR č. AV0Z60870520.

### Literatura

- Bardin M., Fargues J., Nicot P.C. (2008): Compatibility between biopesticides used to control grey mould, powdery mildew and whitefly on tomato. *Biological Control*. 46(3): 476-483.
- Carvalho de C.C.C.R., Fonseca da M-M-R. (2006): Carvone: Why and how should one bother to produce this terpene. *Food Chemistry*. 95: 413-422.
- Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases, [www.ars-grin.gov/duke/](http://www.ars-grin.gov/duke/), 28.8.2010
- Delwiche P. (1980): Genetic aspects of blackleg (*Leptosphaeria maculans*) resistance in rapeseed (*Brassica napus*). Crucifer Genetic Cooperative. PhD thesis University of Wisconsin, Madison, Wis., USA.
- Fofana B., McNally D.J., Labbé C., Boulanger R., Benhamou N., Séguin A., Bélanger R.R. (2002): Milsana-induced resistance in powdery mildew-infected cucumber plants correlates with the induction of chalcone synthase and chalcone isomerase. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 61(2): 121-132.
- Hejný S., Slavík S.: Květena České republiky 2. Academia, Praha, 1993.
- Klejduš B., Kubáň V. (1999): Rostlinné fenoly v alelopatii. *Chemické listy*. 93: 243-248.
- Konstantinidou-Doltsinis S., Schmitt A. (1998): Impact of treatment with plant extracts from *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai on intensity of powdery mildew severity and yield in cucumber under high disease pressure. *Crop Protection*. 17 (8): 649-656.
- Krejčová J., Šerá B., Vrchotová N., Cvrčková K. (2007): Contribution to research allelopathic properties of *Impatiens*. In: The interactions between plants and pathogenic microorganisms. 5th Scientific workshop, Czech Republic, Praha, 2007, pp. 22-24.
- Kubát K., Hrouda L., Chrtěk J. jun., Kaplan Z., Kirschner J., Štěpánek J. (eds.): Klíč ke květeně České republiky, p. 201-202, Academia, Praha, 2002.
- Laribi B., Bettaieb I., Kouki K., Sahli A., Mougou A., Marzouk B. (2009): Water deficit effects on caraway (*Carum carvi* L.) growth, essential oil and fatty acid composition. *Industrial Crops and Products*. 30(3): 372-379.
- Li S-Q., Fang Y-L., Zhang Z-N. (2007): Effects of volatiles of non-host plants and other chemicals on oviposition of *Monomachus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Pest Science*. 80: 119-123.
- Oosterhaven K., Poolman B., Smidt E.J. (1995): S-carvone as a natural potato sprout inhibiting, fungistatic and bacteristatic compound. *Industrial Crops and Products*. 4: 23-31.
- Pavela R., Vrchotová N., Šerá B. (2008): Growth inhibitory effect of extracts from *Reynoutria* sp. plants against *Spodoptera littoralis* larvae. *Agrociencia*. 42: 573-584.
- Pavela R., Vrchotová N., Šerá B. (2009): Repellency and toxicity of three *Impatiens* species (Balsaminaceae) extracts on *Myzus persicae* Sulzer (*Homoptera: Aphididae*). *Journal of Biopesticides*. 2(1): 48-51.

- Plachká, E., Odstrčilová, L. (2007): Houbové choroby v řepce olejce ozimé – *Leptosphaeria maculans*. In: Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění a ochraně rostlin a zpracování produktů. Brno, 2007, s. 435-438.
- Pyšek P., Sádlo J. Mandák B. (2002): Catalogue of alien plants of the Czech Republic. Preslia. 74: 97-186.
- STATISTICA (1999): A comprehensive system for statistics, graphics, and application development.
- Šerá B., Vrchotová N., Cvrčková K., Krejčová J. (2008): Příspěvek ke studiu alelopatických vlastností křídlatek. Zprávy Botanické Společnosti, Praha, 43, Mater. 23: 141-150.
- Šerá B., Vrchotová N., Tříška J. (2005): Phenolic compounds in leaves of alien and native *Impatiens* plants. In: Alford D.V. & Backhaus G.F. (eds.), Plant protection and plant health in Europe: Introduction and spread of invasive plants. BCPC Symposium proceedings No. 81, Berlin, Germany, 2005, pp. 281-282.
- Věchet L., Burketová L., Šindelařová M. (2009): A comparative study of the efficiency of several sources of induced resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) in wheat under field conditions. Crop Science. 28(2): 151-154.
- Vrchotová N., Šerá B. (2008): Allelopathic properties of Knotweed rhizome extracts. Plant Soil and Environment, 54(7), 301-303.
- Vrchotová N., Šerá B., Tříška J. (2007): The stilbene and catechin content of the spring sprouts of *Reynoutria* species. Acta Chromatographica. 19: 21-28.
- Vrchotová N., Šerá B., Tříška J., Dadáková E., Kužel S. (2004): Phenolic compounds in the leaves of *Reynoutria* Houtt. genus. In: Hoikkala A. & Soidinsalo O. (eds), Polyphenols communications 2004, XXII. International Conference on Polyphenols, 25-28 August, Helsinki, Finland, 2004, pp. 811-812
- Vrchotová N., Šerá B., Tříška J. (2005): Fenolické látky v oddencích křídlatky japonské a křídlatky sachalinské. Zprávy Botanické Společnosti, Praha, 40, Mater. 20: 147-152.
- Inoue M., Nishimura H., Li H.H., Mizutani J. (1992): Allelochemicals from *Polygonum sachalinense* Fr Schm (Polygonaceae). Journal of Chemical Ecology, 18, 1833-1840.
- Vastano B.C., Chen Y., Zhu N.Q., Ho C.T., Zhou Z.Y., Rosen R.T. (2000): Isolation and identification of stilbenes in two varieties of *Polygonum cuspidatum*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48(2): 253-256.
- Yang F., Zhang T., Yoichiro I. (2001): Large-scale separation of resveratrol, anthraglycoside A and anthraglycoside B from *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc by high-speed counter-current chromatography. Journal of Chromatography A. 919: 443-448.

## Indukovaná rezistence pšenice proti padlí travnímu (*Blumeria graminis* f. *sp. tritici*).

### Induced resistance of wheat to powdery mildew (*Blumeria graminis* f. *sp. tritici*).

Ing. Lubomír Věchet<sup>1</sup>, CSc., RNDr. Božena Šerá<sup>2</sup>, PhD., RNDR. Naděžda Vrchotová<sup>2</sup>, CSc., Prof. Ing. Karel Kolomazník, DrSc.<sup>3</sup>.

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

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

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

<sup>2</sup> Ústav systémové biologie a ekologie AV ČR, České Budějovice

<sup>3</sup> Univerzita Tomáše Bati, Zlín

#### Abstrakt

Induktory chemického, biologického – rostlinného původu a živočišného původu byly použity k vyvolání rezistence pšenice k padlí travnímu. Nejlepší účinek měl benzothiadiazol (BTH), induktor chemického původu. Z biologických induktorů měly nejlepší účinek zázvor a křídlatka sachalinská, z živočišného původu vzorek 2. Nejméně efektivní na snížení závažnosti padlí travního byl vzorek 4, z induktorů biologického původu to byla kurkuma.

**Klíčová slova:** induktory chemického původu; induktory biologického-rostlinného původu; induktory živočišného původu; pšenice; závažnost choroby; efektivita

#### Abstract

Inducers of chemical, biological – plant origin and animal origin were used to inducing of wheat resistance to powdery mildew. The best effect had benzothiadiazol (BTH) inducer of chemical origin. From biological inducers ginger and giant knotweed, from animal origin the sample 2 had the best effect. The latest effective on decrease powdery mildew severity had the sample 4 from inducers of biological inducers it was curcuma.

**Key words:** inducers of chemical origin; inducers of biological-plant origin; inducers of animal origin; wheat; disease severity; effectiveness

#### Úvod

Ochrana rostlin proti škodlivým organizmům může probíhat několika způsoby. V první řadě to je šlechtění na rezistenci k chorobám a škůdcům, dále chemická ochrana, biologické způsoby ochrany a indukovaná rezistence.

U pšenice je zatím málo známo o induktorech rezistence k chorobě a speciálně o biologických aktivitách o těchto odvozených endogenních elicitorů, tak jako oligogalakturonidy. Padlí travní je jednou z nedestruktivnějších listových chorob pšenice na celém světě. Choroba obvykle snižuje výnos o 5 až 34% (Conner et al., 2003). Geneticky jsou klasifikovány dva typy rezistence, kvalitativní je kontrolována *Pm* geny rezistence (R). V dnešní době je označeno více než 55 alel rezistentních k padlí travnímu na 39 (*Pm1*–*39*) okusech chromozomů pšenice (Huang & Röder, 2004; Lillemo et al., 2008; He et al., 2009). Geny rezistence k padlí travnímu mohou být klasifikovány jako dominantní a recesivní s jejich dědičnými charakteristikami.

Rostliny mají společného se živočichy to, že vlastní jedinečné induktivní mechanismy ochrany proti infekci patogenů. Indukovaná rezistence je podle van Loona et al. (1998) fyziologický stav vytvořený specifickými vnějšími stimuly, který znamená zvýšenou obranyschopnost rostliny. Následnými biotickými změnami jsou zesíleny vrozené obranné mechanismy rostliny. Tento stav zvýšené rezistence je účinný proti široké řadě patogenů, včetně hub, bakterií, virů, nematod, parazitických rostlin a dokonce býložravému hmyzu (Benhamou & Nicole, 1999; Kesler & Baldwin, 2002).

Rostliny mají několik mechanismů rezistence na základě indukovaných podnětů, které můžeme dělit na rezistenci místní (lokální) a systémovou. Lokální rezistence zahrnuje strukturální změny, jako utváření papily, tylós a abscise (oddělení) zón. Nekrotické změny začínají uvolněním protonů a draslíkových iontů z buňky a vrcholí v oxidační destrukci obsahu buňky lipidovými hydroperoxidázami a reaktivními druhy kyslíku. Tento typ rezistence dále zahrnuje toxické změny, to znamená akumulaci fytoalexinů, syntézu fenolových sloučenin a jejich následnou oxidaci do chinonových sloučenin polyfenolovou oxidázou a peroxidázou.

Systémová rezistence zahrnuje akumulaci antimikrobiálních sloučenin v části rostliny, vzdálené od místa infekce. Existují čtyři hlavní třídy sloučenin, které mohou akumulovat hydrolázy: k patogenezí vztažené proteiny (PR-proteiny), defensiny (Broekaert et al., 1995), inhibitory proteináz (Schaller & Ryan, 1996) a komponenty buněčné stěny, zvláště hydroxyprolinem bohaté glykoproteiny (HRGP) (Agrios, 1998), dále pak lignin (zpevňující polymer v rostlinách) a jeho prekurzory (Sticher et al., 1997).

Cílem laboratorních pokusů bylo zjistit účinnost několika induktorů rezistence pšenice proti padlí travnímu pomocí sedmi ras patogena.

## **Materiál a metody**

Pokusy byly založeny na odrůdě pšenice ozimé Kanzler, náchylný standard k padlí travnímu. Semenáče odrůdy ve stáří 14 byly ošetřeny jednotlivými induktory rezistence. Po týdnu působení byly z prvních listů připraveny listové segmenty (délka 3cm), které byly umístěny na vodní benzimidazolový agar (70ppm). Segmenty byly infikovány pod sedimentační věží jednotlivými rasami padlí travního. Po infekci byly plexisklové krabičky přikryty víkem a umístěny do klimaboxů, při teplotě 21°C s režimem světla 16 hod. Za 12 dní po infekci, byl proveden odečet závažnosti napadení podle 9ti bodové stupnice (Saari & Prescott, 1975). Infekce padlím travním byla provedena izolátem z odrůdy Disponent s genem rezistence *Pm8*. Virulence v populaci patogena k tomuto genu rezistence byla v předchozím roce 2008 na střední úrovni, v porovnání s virulencí k ostatním specifickým genům rezistence.

V pokusech byla zařazena neošetřená kontrola (KO) a varianty ošetřené jednotlivými induktory. Induktory chemického původu: BTH - benzthiadiazol, SA - kyselina salicylová. Induktory biologického původu: DK - dubová kůra, KU - kurkuma, GB - glycin betain, GR - greenstim, KS - křídlatka sachalinská, ZA - zázvor. Induktory živočišného původu (odpady z jatek): VZ1 - vzorek 1, VZ2 - vzorek 2, VZ3 - vzorek 3, VZ4 - vzorek 4. Extrakty byly připraveny z listů, nadzemních částí rostlin nebo sušené kůry:

BHT - benzothiadiazol\_S-metylester kyseliny 1,2,3-benzotiazolové, komerční přípravek Bion® (SYNGENTA).

Kyselina salicylová - funguje jako hormon rostlin.

Dubová kůra - (*Quercus robur* L.) je používána v biologicko-dynamickém zemědělství. Podporuje odolnost rostlin k chorobám.

Kurkuma (*Curcuma longa*) - antioxydační účinky, obsahuje kurkumin (antioxydant).

Glycin betain - (N,N,N-trimethylglycin) látka, která hraje důležitou úlohu v rostlinách při různých stresech (vysoké množství solí v půdě, nízké teploty).



Greenstim - přírodní produkt, obsahuje bezvodý glycin betain získaný z cukrové řepy. Syntetizuje se v rostlinách při působení stresových podmínek.

Křídlatka sachalinská - (*Reynoutria sachaliensis* L.) patří do čeledi rdesnovitých (*Polygonaceae*) extrakty z listů mají preventivní ochranný efekt proti padlí travnímu u mnoha plodin.

Zázvor - tropická rostlina z čeledi zázvorovitých (*Curcuma longa* L.) obsahuje účinnou složku kurkumin a kurkumol (kurkumový olej) připravený z jejich rhizomů.

Všechny vzorky mají sušinu zhruba 10%. Alkalický hydrolyzát Hykol-E( mol.hm 10-30 kD) byl podroben kyselé hydrolyze při bodu varu (100st.C) 10% HCl, za účelem snížení molární hmotnosti na (2-5 kD), Vzorky 1, 2, 3, 4, se liší druhem použitého neutralizačního činidla.

Vzorek č. 1. - 70% bílkovin, 30% oxid draselný ve formě KCL

Vzorek č. 2. - 90% bílkovin, 10% anorganický dusík ve formě chloridu amonného

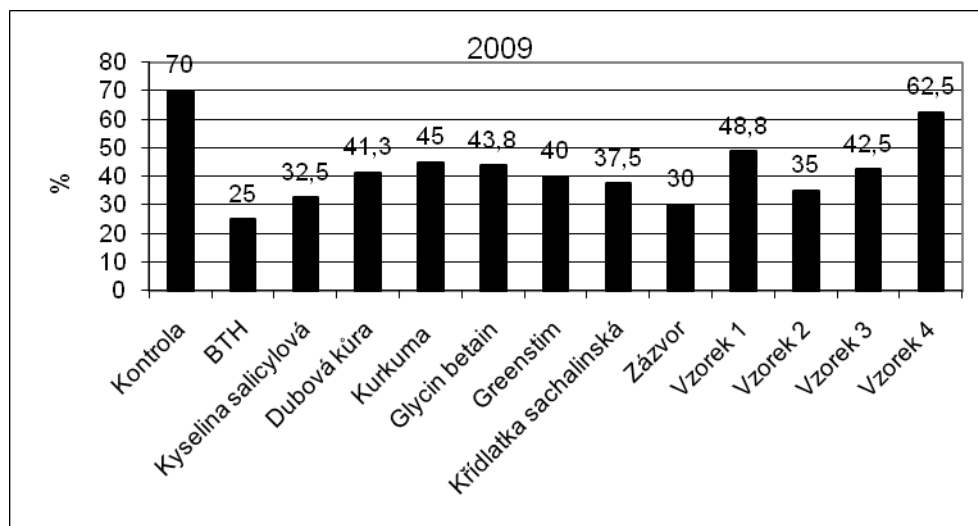
Vzorek č. 3. - 95% bílkovin, 5% anorganický dusík ve formě cyklohexanammonium chloridu

Vzorek č. 4. - 95% bílkovin, 5% organický dusík ve formě n-butylammoniumchloridu

### **Výsledky**

Z grafu 1 je zřejmé, že největší závažnost choroby měla kontrola. Ošetření jednotlivými induktory přineslo nižší závažnost padlí travního o 20 a více procent oproti kontrole. Nejvyšší závažnost byla po ošetření vzorkem 4 a 1, následovalo ošetření kurkumou, glycin betainem a vzorkem 3. Nejnižší závažnost padlí travního byla po ošetření BTH, zázvorem, kyselinou salicylovou, vzorkem 2 a křídlatkou sachalinskou. Z induktorů chemického původu byla nejnižší závažnost po aplikaci BHT, po aplikaci kyseliny salicylové byl závažnost choroby vyšší. U induktorů biologického původu byla nejnižší závažnost choroby po ošetření zázvorem a křídlatkou sachalinskou. Nejvyšší závažnost byla po ošetření kurkumou a glycin betainem. Ošetření greenstimem přineslo nižší závažnost padlí travního, než po ošetření glycin betainem. Odpady z jatek nebyly příliš úspěšné. Nejnižší závažnost choroby byla po aplikaci vzorku 2 a 3. Vzorky 1 a 4 vyvolaly vyšší závažnost choroby, než induktory biologického původu.

Graf 1. Procento závažnosti padlí travního (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*) na listových segmentech odrůdy Kanzler po ošetření induktory rezistence.



Z Tab. 1 je zřejmé, že vysoce efektivní, do 50% závažnosti napadení kontroly, bylo působení BTH, kyseliny salicylové, zázvoru a VZ2. O 30 – 40%. Ošetření křídlatkou sachalinskou, greenstimem, dubovou kůrou, kurkumou, glycin betainem, vzorkem 3 a vzorkem 1 mělo, oproti kontrole lepší efektivitu. Nejmenší efekt mělo ošetření vzorkem 4. Z induktorů biologického původu mělo nejlepší efekt ošetření zázvorem a křídlatkou sachalinskou.

Tab. 1. Efektivita ošetření pšenice Kanzler proti padlí travnímu jednotlivými induktory rezistence vzhledem ke kontrole

Název	%
<b>Kontrola</b>	<b>100,00</b>
<b>BTH</b>	<b>35,71</b>
<b>Kyselina salicylová</b>	<b>46,43</b>
<b>Dubová kůra</b>	<b>59,00</b>
<b>Kurkuma</b>	<b>64,29</b>
<b>Glycin betain</b>	<b>62,57</b>
<b>Greenstim</b>	<b>57,14</b>
<b>Křídlatka sachalinská</b>	<b>53,57</b>
<b>Zázvor</b>	<b>42,86</b>
<b>VZ 1</b>	<b>69,71</b>
<b>VZ 2</b>	<b>50,00</b>
<b>VZ 3</b>	<b>60,71</b>
<b>VZ 4</b>	<b>89,29</b>

## Diskuse

Laboratorní testy ukázaly zajímavé výsledky s použitím rostlinných přípravků biologického původu a některých přípravků živočišného původu k vyvolání rezistence pšenice k padlí travnímu. Z biologických přípravků mělo vysoký efekt použití zázvoru a křídlatky sachalinské. Velmi účinné bylo použití induktorů chemického původu BTH a kyseliny salicylové. Účinek BTH proti padlí na pšenici byl popsán již v roce 1996 (Górlach et al., 1996). Největší účinnost měl však induktor chemického původu benzothiadiazol (BTH - Bion®). Je známý jako syntetický aktivátor systémové rezistence rostlin (Kat et al., 1998). O účinku kyseliny salicylové proti padlí na pšenici a ječmeni se zmiňují Langen et al. (2002).

Byl také popsán účinek kyseliny salicylové v rezistentní reakci v interakci ruská pšenice a mšice (Mohane & Westhulzen, 2002). Z našich pokusů je zřejmé, že nové induktory rezistence je možné hledat i v odpadech z jatek, živočišného původu. Bude však třeba provést řadu dalších pokusů. Byla však prováděna celá řada pokusů s dalšími induktory rezistence na dalších plodinách a proti jiným chorobám. Příkladem může být pozorovaný vliv disacharidu trehalóza na indukci pšenice k padlí travnímu (Reignault et al., 2001).

Zájem o indukovanou rezistenci se zvyšuje od konce 50. let a posledních 10 letech se zvyšuje zájem o její praktické využití (Kuc, 2001). Pravděpodobně v blízké budoucnosti lze očekávat využití indukované rezistence nejen proti biotrofním patogenům, ale i proti nekrotrofním a hemibiotrofním patogenům, které najde své uplatnění v ekologickém a konvenčním zemědělství.

### **Poděkování**

Řešení bylo podporováno projektem NAZV QH72117.

### **Literatura**

- Conner RL, Kuzyk AD, Su H (2003): Impact of powdery mildew on the yield of soft white spring wheat cultivars. *Can J. Plant Sci.* 83: 725-728.
- Görlach J, Volrath S., Knauf-Beiter G., Hengry G., Beckhove U., Kogel K.H., Oostendorp M, Staub T., Ward E., Kessmann H, Ryals J. (1996): Benzthiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *American Society of plant Physiologists Plant cell.* 8 (4): 629-643.
- Katz V.A., Thulke O.U., Conrath U. (1998): A benzothiadiazole primes parsley cells for augmented elicitation of defence responses. *Plant Physiol.* 117: 1333-1339.
- Kuc J. (2001): Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. *Eur J Plant Pathol.* 107: 7-12
- He R, Chang Z, Yang Z, Yuan Z, Zhan H, Zhang X, Liu J. (2009): Inheritance and mapping of powdery mildew resistance gene Pm43 introgressed from *Thinopyrum intermedium* into wheat. *Theor. Appl. Genet.* 118: 1173-1180.
- Huang XQ, Röder MS (2004): Molecular mapping of powdery mildew resistance genes in wheat: a review. *Euphytica.* 137: 203 - 223.
- Langen G., Beßer R., Eichmann U., Geldermann, B., Kah, S. von Rüden, Kogel K.H.: BTH induced barley genes: co-regulated or directly involved in powdery mildew resistance? *Plant protection Science, Proceedings 6<sup>th</sup> Conference of EFPP 2002, Prague, Czech republic 8-14 September 2002.*
- Lillemo M, Asalf B, Singh RP, Huerta-Espino J, Chen XM, He ZH, Bjørnstad Å (2008): The adult plant rust resistance loci *Lr34/Yr18* and *Lr46/Yr29* are important determinants of partial resistance to powdery mildew in bread wheat line Saar. *Theor. Appl. Genet.* 116: 1155-1166.
- Mohane L., van der Westhulzen A. (2002): Salicylic acid is involved in resistance response in the Russian wheat aphid-wheat interaction. *J. Plant Physiol.* 159: 585-590.
- Reignault Ph; Coga A.; Muchembled J.; Sahraoui A.L.H.; Durand R.; Sancholle M. (2001): Trehalose induced resistance to powdery mildew in wheat. *New-Phytopathologist,* 149 (3): 519-529.

