

Monitoring askospor *Gibberella zeae* v porostu ozimé pšenice

(Monitoring of *Gibberella zeae* ascospores in winter wheat stand)

Ondřej Jirsa, Ivana Polišínská, Pavel Matušinský
Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787/121, Kroměříž

Souhrn

Pomocí aktivního lapače spor byl v letech 2006–2008 sledován výskyt askospor *Gibberella zeae* v porostu pšenice ozimé po předplodině kukuřici v závislosti na počasí a růstové fázi pšenice a byla hodnocena úroveň kontaminace DON na pokusné lokalitě (Kroměříž) a na výběru vzorků z celé ČR. Nebyla pozorována přímá souvislost mezi záchytem askospor a růstovou fází pšenice na výsledný obsah DON. Primárním povětrnostním faktorem ovlivňujícím proces infekce byla doba, množství a četnost srážek v kombinaci s teplotou a dobou slunečního svitu. Míra kontaminace ozimé pšenice na sledované lokalitě korespondovala se situací v celé ČR, když největší podíl pozitivních vzorků byl zjištěn v roce 2007.

Klíčová slova: *Gibberella zeae*, pšenice, růžovění klasů pšenice, DON

Summary

Using an automatic spore trap, occurrence of *Gibberella zeae* ascospores in the stand of winter wheat following maize was monitored in 2006–2008 depending on weather conditions and wheat growth stage. The level of DON contamination was evaluated at an experimental location (Kroměříž) and also on a sample set collected across the Czech Republic. No straightforward relationship between ascospore capture and growth stage on DON content was observed. Primary weather factor affecting infection was rainfall amount, time, and frequency, in combination with temperature and solar radiation. Level of contamination in winter wheat at experimental location agreed with situation in the Czech Republic, when most positive samples was detected in 2007.

Key words: *Gibberella zeae*, wheat, FHB, DON

Úvod

Gibberella zeae (Schwein.) Petch (anamorfa *Fusarium graminearum*), původce růžovění klasu pšenice (*Fusarium Head Blight*, FHB), vytváří perithecia obsahující askospory, které jsou primárním zdrojem infekce. Rozvoj FHB je ovlivněn složitým komplexem interakcí mezi patogenem, hostitelem a vnějším prostředím. Velký vliv na rozvoj epidemie má množství primárního inokula dostupného pro infekci plodiny. Pro vývoj perithecií jsou vhodné teploty mezi 15 a 25 °C. Uvolňování askospor je nejvyšší při vysoké vzdušné vlhkosti, pro distribuci je však příznivě následně suché období. Klasy ozimé pšenice jsou velmi odolné k infekci v období před kvetením, nejnáchylnější v jeho průběhu (Buschnell et al., 2003). Pro uchycení infekce a následný rozvoj FHB je klíčová teplota a délka expozice při trvalé vlhkosti po inokulaci rostlin.

Cílem práce bylo využití časově monitorovaného záchyty askospor v lokalitě s dostatečným zdrojem infekčního materiálu pro sledování závislosti doby objevení se askospor na počasí ve vztahu k růstové fázi pšenice a obsahu mykotoxinu deoxynivalenolu (DON) v zrně.

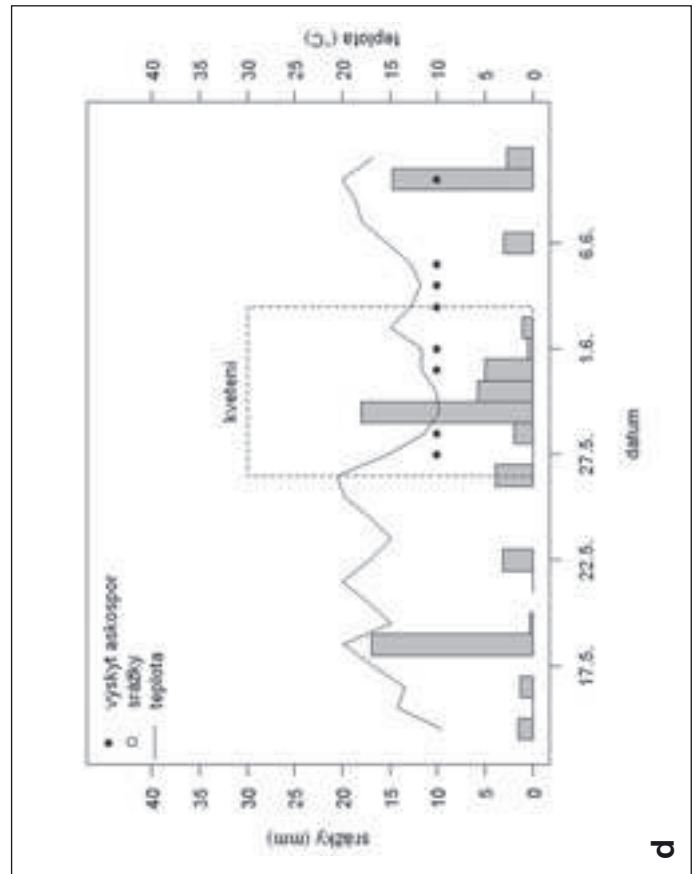
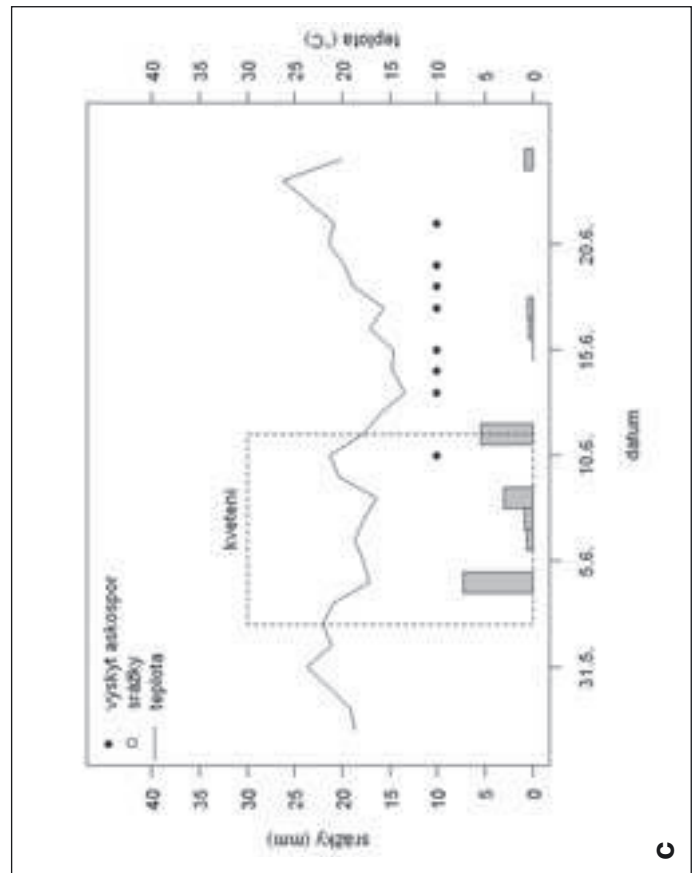
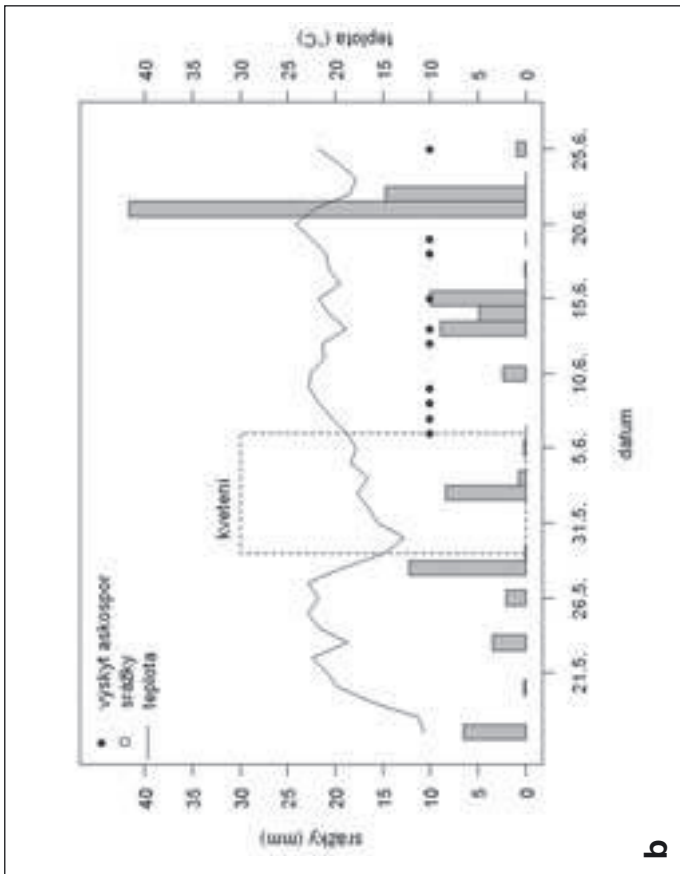
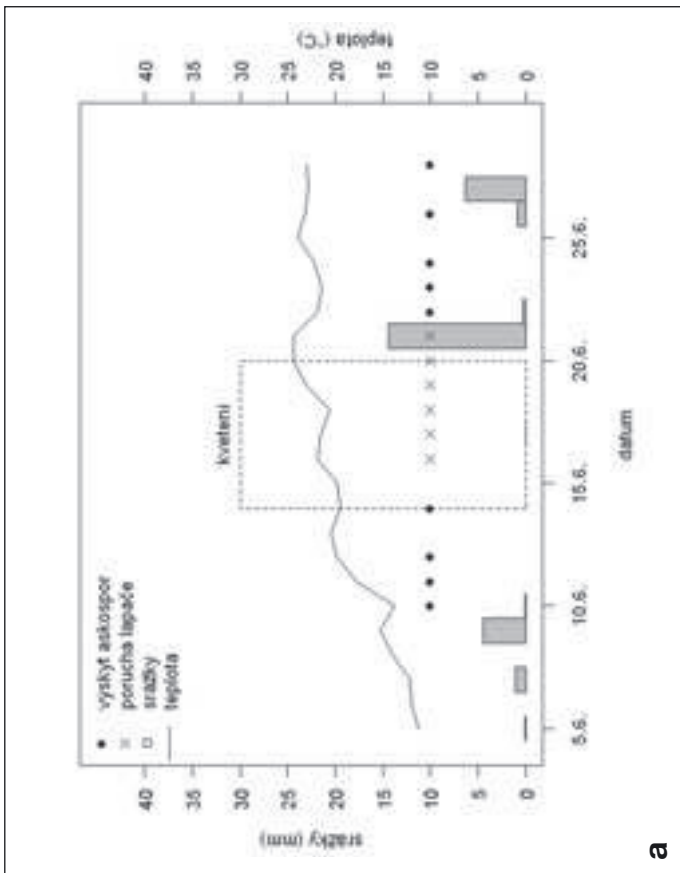
Materiál a metody

Byl používán aktivní lapač spor (Obr. 1), který umožňuje týdenní záchyt spor na nekonečný PVC pásek. Lapač byl umístěn v porostu pšenice ozimé (odrůda Cubus) před vymetáním na lokalitě Jarohněvice, po předplodině kukuřici. Posklizňové zbytky kukuřice byly na pozemku rozdraceny a zaorány hlubokou orbou. Ihned od umístění bylo mikroskopicky sledováno dozrávání perithecií na posklizňových zbytcích. Na základě údajů z celé doby sledování byly zjišťovány korelace mezi dynamikou uvolňování askospor vztáženou k růstovým fázím obilovin, nejvýznamnějšími povětrnostními parametry, napadením klasovými fuzárii a obsahem DON. Vzorky pro získání hodnot obsahu mykotoxinů pro analýzu těchto vztahů byly voleny tak, aby co nejvíce charakterizovaly daný

ročník – úroveň kontaminace DON byla hodnocena na pokusné lokalitě u odrůd Akteur, Cubus a Meritto a porovnávala se situací v ČR na vybraných vzorcích. DON byl stanovován metodou ELISA s kity RIDASCREEN DON. Ze stanice v Kroměříži (235 m n. m.) byly získány základní meteorologické údaje: průměrná teplota, úhrn srážek, průměrná relativní vlhkost vzduchu a průměrná doba slunečního svitu.

Výsledky a diskuse

V roce 2006 (Obr. 3a) byly první askospory zachyceny již před kvetením (BBCH 51), tj. o deset dní dříve než byla na posklizňových zbytcích objevena zralá perithecia s uvolňujícími se askosporami, a jejich přítomnost byla pozorována po celé období kvetení. V průběhu kvetení nebyly zaznamenány žádné srážky a průměrná denní teplota byla ze všech sledovaných let nejvyšší. Výsledný obsah DON byl nízký (max. 0,310 mg/kg). Nejvyšší obsah DON v roce 2007 (Obr. 3b) byl spojen se srážkami před obdobím kvetení, v jeho průběhu i po něm a s vysokou relativní vzdušnou vlhkostí. Teploty byly mírně nižší než v roce 2006 (okolo 20°C). Období metání a květu oz. pšenice bylo v tomto roce velmi rychlé, askospory se objevily až v úplném závěru kvetení (BBCH 69). V roce 2008 (Obr. 3c) byl zjištěn nejnižší obsah DON. Zralá perithecia byla pozorována již od umístění lapače, ale askospory se objevily až v závěru kvetení stejně jako v roce 2007. Množství srážek v průběhu kvetení bylo nejvyšší ze sledovaných let. V období před a po kvetení oz. pšenice naopak nebyly zaznamenány žádné srážky. Průměrná relativní vlhkost vzduchu byla nejnižší jak v průběhu kvetení, tak v době po odkvětu pšenice ze všech sledovaných let. V roce 2009 (Obr. 3d) bylo v průběhu kvetení nejchladněji ve sledovaném období s častými srážkami a zamračenou oblohou. Perithecia začala dozrávat v době metání a během kvetení se uvolňovaly zralé askospory. Obsah DON na lokalitě byl vyšší podobně jako v roce 2007 (Tab. 1).



Obr. 3: Vývoj počasí a záchyt askospor v roce 2006 (a), 2007 (b), 2008 (c) a 2009 (d)

Z analýzy údajů o počasí plyne, že prvnímú záchytu askospor předcházely vždy srážky. Pro patogena *G. zeae* jsou posklizňové zbytky hlavním zdrojem počátečního inokula a pro infekci porostu FHB mají význam jak konidie, tak askospory. Produkce inokula je kriticky závislá na srážkách, ačkoliv přesný vztah je nejasný. Klíčovými faktory pro vývoj FHB jsou teplé a vlhké podmínky během kvetení (Xu, 2003). Doba potřebná k vyvinutí zralých perithecií kolísá v závislosti na teplotě a vlhkosti. K úspěšné infekci porostu jsou dále zapotřebí příznivé podmínky pro řadu po sobě následujících procesů, včetně uvolnění zralých askospor z perithecií, jejich transport a počáteční vývoj v klase. Podmínky příznivé pro jeden proces nemusí být příznivé pro proces následující, proto tyto počáteční fáze infekce porostu mohou trvat řádově od několika hodin až po dny. Z většiny studií vyplývá, že vlhkost (nebo její nedostatek) je hlavním limitujícím faktorem šíření spor (Paul et al., 2007), což potvrzují i naše výsledky.

Na samotný vývoj perithecií má vliv také teplotní průběh již v měsíci dubnu, který v podmínkách ČR patří k nejproměnlivějším měsícům s častými obdobími s teplotou pod 10 °C, což tvorbu perithecií zpožďuje (Klem et al., 2007). I ojediněle dozrávající perithecia, jejichž výskyt dokáže lapač spor signalizovat, mohou být významným zdrojem infekce. Pro posouzení skutečného rizika rozvoje epidemie FHB s následkem zvýšené tvorby mykotoxinů je ovšem vedle zdroje infekce nutné posoudit průběh počasí zejména v období okolo kvetení, především pak intenzitu srážek před a po začátku kvetení a teploty. Roky se zvýšeným obsahem DON (2007, 2009) se vyznačovaly dostatkem srážek (Tab. 2), což pozorovali např. Rasmussen et. al (2007), a to nejen v době kvetení. Např. v roce 2008 byly v období kvetení zaznamenány 3 srážkové dny s celkovým úhrnem srážek 17,3 mm, obsah DON byl však nižší než v roce 2007, kdy byly v období kvetení srážky zaznamenány pouze v 1 dnu o celkovém úhrnu 9,4 mm, avšak hojné srážky následovaly v období po odkvětu. Cowger et al. (2009) pozorovali významný příznivý vliv dlouhodobé vlhkosti trvající 20 až 30 dní po odkvětu na rozvoj FHB a také specifickou reakci odrůd na takové podmínky.

Záleží ovšem také na tom, v jak vzdáleném období po odkvětu srážky následují. Jak uvádí Culler et al. (2007), intenzivní srážky v období blízkým se ke sklizni mohou paradoxně způsobit pokles obsahu DON. Tento mykotoxin je totiž rozpustný ve vodě a může tedy docházet k jeho „vymývání“ z klasů.

Kromě askospor *G. zeae* byly na pásce hojně zachycovány pyknostry *Septoria tritici* a spory rzí, což poukazuje na možnost využití pro předpověď infekčního tlaku i jiných chorob. Naopak na pásce se prakticky neobjevovaly makrokonidie fuzárií, což svědčí o jejich minimálním pohybu vzduchem a jejich významu pouze za silně deštivého počasí, kdy dochází k rozstříku makrokonidií do vyšších pater a následně také do klasů.

Závěr

Ve všech sledovaných letech byly v porostu ozimé pšenice, pěstované po předplodině kukuřici, zachyceny askospory *G. zeae*. Nebyl pozorován přímý vliv časové souslednosti objevení se askospor a růstové fáze pšenice na výsledný obsah DON. Jako zdroj inokula mohly sloužit také makrokonidie a fragmenty hyf patogena. Výsledky potvrzují literární údaje, že totiž primárními povětrnostními faktory ovlivňujícími proces infekce porostu patogeny způsobujícími FHB, rozvoj epidemie a následnou tvorbu mykotoxinů jsou zejména množství, doba a četnost srážek v kombinaci s teplotou a dobou slunečního svitu. Tomuto vlivu podléhají všechny složky komplexu interakcí hostitel–patogen–vnější prostředí. Míra kontaminace ozimé pšenice mykotoxinem DON na sledované lokalitě korespondovala se situací v celé ČR,

kde nejvyšší podíl pozitivních vzorků na obsah DON byl zjištěn v roce 2007.

Poděkování

Tato práce byla podpořena grantem Ministerstva zemědělství České republiky (2006–2009; QG60047).

Literatura

- Buschnell W. R., Hazen B. E., Pritsch C. (2003): Histology and physiology of *Fusarium* head blight. In: Leonard K. J., Buschnell W. R. (eds). *Fusarium head blight of wheat and barley*. 2003. APS, St. Paul, Minnesota, USA.
- Cowger C., Patton-Özkurt J., Brown-Guedira G., Perugini L. (2009): Post-anthesis moisture increased *Fusarium* head blight and deoxynivalenol levels in North Carolina winter wheat. *Phytopathology* 99: 320–327.
- Culler M.D., Miller-Garvin J. E., Dill-Macky R. (2007): Effect of Extended Irrigation and Host Resistance on Deoxynivalenol Accumulation in *Fusarium*-Infected Wheat. *Plant Disease* 91:1464–1472.
- Klem K., Váňová M., Hajšlová J., Lancová K., Sehnalová M. (2007): A neural network model for prediction of deoxynivalenol content in wheat grain based on weather data and preceding crop. *Plant, Soil and Environment* 53(10): 421–429.
- Paul P. A., Lipps P. E., DeWolf E., Shaner G., Buechley G., Adhikari T., Ali S., Stein J., Osborne L., Madden L. V. (2007): A distributed lag analysis of the relationship between *Giberella zeae* inoculum density on wheat spikes and weather variables. *Phytopathology* 97:1608–1624.
- Rasmussen P. H., Petersen A., Ghorbani F. (2007): Annual variation of deoxynivalenol in Danish wheat flour 1998–2003 and estimated daily intake by Danish population. *Food Additives and Contaminants* 24(3): 315–325.
- Xu X. (2003): Effects of environmental conditions on the development of *Fusarium* ear blight. *European Journal of Plant Pathology* 109: 683–689.

Tab. 1: Průměrné hodnoty DON na sledované lokalitě (mg.kg⁻¹) a podíl (%) pozitivních vzorků ve výběru z ČR.

	2006	2007	2008	2009
DON na lokalitě	0,182	0,817	0,162	0,639
Podíl pozitivních vzorků	5,1	6,7	4,9	NA*
*NA – údaj není zatím k dispozici				

Tab. 2: Úhrn srážek (mm) a počet dní (v závorce) se srážkami >2 mm.

	2006	2007	2008	2009
7 dní před kvetením	5,7 (1)	17,8 (3)	0,0 (0)	3,5 (1)
období kvetení	0,0 (0)	9,4 (1)	17,3 (3)	36,3 (4)
10 dní po kvetení	90,5 (4)	26,4 (4)	0,9 (0)	23,3 (3)



Obr. 1: Lapač spor v porostu ozimé pšenice. Foto Matušinsky.



Obr. 2: Perithecium s dozrávajícími askosporami (a) a zralé askospory (b). Foto Matušinsky

Využití různých metod pro hodnocení rezistence k fuzarióze klasu u odrůd pšenice ozimé registrovaných v ČR

(Use of various methods for assessing Fusarium head blight resistance in winter wheat cultivars registered in the Czech Republic)

Jana Chrpová¹⁾, Marie Váňová²⁾, Václav Šíp¹⁾

¹⁾ Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha, Ruzyně

²⁾ Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787/121, Kroměříž

Souhrn

S ohrožením porostů pšenice v důsledku napadení fuzariózami klasu je v našich podmínkách třeba počítat prakticky každoročně. Zvláště v problematických oblastech je vhodné volit odrůdy s vyšší odolností ke klasové fuzarióze a k akumulaci mykotoxinů. V České republice je v současné době věnována velká pozornost rezistenci k fuzarióze klasu při registračním řízení i při doporučení odrůd pro pěstování.

Jako nejspolehlivější z hlediska jistoty dosažení výsledků a rozlišení zkoušených materiálů se jeví inokulace postřikem, zvláště, když je podpořena umělou závlahou.

Metoda přirozené infekce, využívající stanoviště po kukuřici a minimálním zpracování půdy, imituje nejlépe přirozený způsob infekce. Metoda je však silně závislá na průběhu počasí v daném ročníku.

Optimální je, když jsou k dispozici výsledky, které byly získány více metodami.

Výsledky hodnocení odrůd dokumentují možnost dosáhnout zvýšeného stupně rezistence i při využití současných komerčních odrůd jako rodičů.

Klíčová slova: ozimá pšenice, fuzariózy klasu, odrůdová odolnost

Summary

A risk of wheat stand infection by Fusarium head blight (FHB) under our conditions shall be taken into consideration practically every year. Especially in problematic regions it is useful to select cultivars with higher resistance to FHB and mycotoxin concentration. In the Czech Republic, a great attention is now paid to FHB resistance during the registration process and recommending cultivars to growers.

The most reliable method considering a certainty of obtaining results and distinguishing the examined materials is spray inoculation and especially if strengthened with artificial irrigation.

A method of natural infection, using a site after maize and minimum soil tillage, simulates best a natural mode of infection. However, this method strongly depends on a weather course during the given year.

It is optimal if there are available results obtained using more methods.

The results of evaluating cultivars document a possibility of achieving a higher resistance level even at using current commercial cultivars as parental forms.

Key words: winter wheat, Fusarium head blight (FHB), cultivars resistance