

# Výzkum populace původce padlí jako nezbytná součást šlechtění ječmene na odolnost

(Investigation in the powdery mildew population as an integral part of breeding barley for resistance)

Antonín Dreiseitl

Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787, 767 01 Kroměříž

## Souhrn

Příspěvek je věnován dílčím výsledkům studia populace původce padlí ječmene z r. 2009 a jejich návaznosti na šlechtění, ale i na další výzkum v rámci daného hostitelsko patogenního vztahu. Jsou uvedeny nálezy čtyř nově zjištěných virulencí k dosud plně účinným odolnostem zahraničních odrůd Burštn, Dubai, Laverda a Oowajao, zjištění dvou dosud málo frekventovaných virulencí k odolnostem registrovaných odrůd Kangoo a Spilka a nález dvou izolátů se vzácnou avirulencí Avh. Vybrané izoláty s uvedenými charakteristikami, společně s několika dalšími izoláty, které se vyznačují vhodnými kombinacemi virulencí, byly zařazeny do pracovní genové banky patogenu. Tyto izoláty nepochybňě přispějí k dalšímu rozvoji studovaného patosystému, včetně identifikace genů odolnosti v odrůdách ječmene, ale zvláště k efektivnějšímu výběru šlechtitelských kmenů perspektivních z pohledu jejich odolnosti k původci dané choroby.

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

## Abstract

The contribution is focused on the study of the barley powdery mildew population in 2009 and its continuation in breeding and further research into problems of the given host-pathogen relationship. Detection of four new virulences to date fully effective resistances of barley cvs. Burštn, Dubai, Laverda and Oowajao, detection of two current rare virulences to the resistances of cvs. Kangoo and Spilka as well as detection of rare avirulence Avh are reported. Selected isolates with the mentioned characteristics together with some other isolates with suitable virulence combinations have been included in our working genebank of the pathogen and are sure to contribute to further development of the investigated pathosystem, including more effective selection of breeding stocks perspective for their resistance.

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

## Úvod

Pěstování odolných odrůd je nejen nejúčinnější ochranou vůči chorobám, ale je současně prosté jakýchkoli rizik pro zdraví konzumentů. Padlí, jehož původcem je vzduchem přenosná patogenní houba *Blumeria graminis* f.sp. *hordei*, je nejčastější chorobou neodolných odrůd ječmene. Ve vztahu ječmen – původce padlí existuje velký počet známých genů odolnosti (Jørgensen 1994, Dreiseitl 2007) a existenci mnoha dalších lze předpokládat (Dreiseitl a Dinoor 2004). To umožnuje šlechtitelům rozvíjet program šlechtění odrůd ječmene odolných vůči původci padlí. Pokud má být takovýto program úspěšný, musí mít přirozenou zpětnou vazbu, kterou jsou v daném případě informace o populaci daného patogenu.

Studium populace patogenu si zpravidla klade za cíl získání širokého okruhu informací o původci dané choroby. V delším časovém horizontu pak mj. umožňuje analyzovat působení jednotlivých evolučních sil a jejich podíl na „ztrátě“ odolnosti příslušných odrůd (Dreiseitl 2009). Z pohledu genetické odolnosti je základem těchto informací zjišťování virulencí každého jedince (izolátu) daného patogenu vůči genům specifické odolnosti, tedy zjišťování schopnosti studovaných izolátů vyvolat chorobu i na odrůdách s určitými geny odolnosti. K tomu je využíván soubor odrůd příslušné hostitelské plodiny (v našem případě ječmene), které obsahují vybrané geny odolnosti, a který je označován jako diferenciální soubor. Odrůdy, vůči jejichž genům odolnosti existují v dané patogenní populaci jak virulence tak i avirulence, jsou schopny zachytit rozdíly mezi izoláty a danou populaci tedy skutečně diferencují.

Studium populace prováděné v roce 2008 bylo zaměřeno na zjišťování frekvence virulencí ke genům odolnosti obsaženým

v odrůdách ječmene ozimého (Dreiseitl 2008). Jako doplňkovou jsme však použili i v daném roce nově registrovanou odrůdu ječmene jarního Kangoo (Dreiseitl nepublikováno). Ta obsahovala odolnost, která byla do té doby účinná vůči všem izolátům naší pracovní genové banky patogenu, kterými identifikujeme geny odolnosti, proto byla pro nás odolnost odrůdy Kangoo odolností neznámou. V roce 2008 jsme však nalezli izoláty virulentní k této odrůdě. Využití některých z nich nám umožnilo následnou identifikaci této odolnosti a také významně ovlivnilo zaměření studia populace v roce 2009. Tento příspěvek je zaměřen na malý, ale z hlediska šlechtění ječmene významný segment dané studie, kterým je nález nových virulencí v roce 2009.

## Materiál a metody

Vzorek populace patogenu byl získán na přelomu května a června 2009, tedy v období s předpokládaným vyváženým poměrem konidií vyprodukovaných odrůdami jarního i ozimého ječmene, a to odchytěm konidií v přízemní vrstvě vzduchu (ve výšce cca 2 m) pomocí specializovaného fytopatologického přístroje (Schwarzbach 1979) umístěného na střeše osobního automobilu (Obr. 1), který byl řízen po trase vedoucí pěstitelskými oblastmi ječmene v ČR. Trasa odchytu, která je několik posledních let identická, byla rozdělena na 14 úseků, z nichž šest reprezentuje pěstitelské oblasti Moravy a šest Čechy (Obr. 2). Ze dvou zbylých úseků (vyznačeny čárkovaně) nebyly odchycené vzorky populace využity.

V roce 2009 byly v daném termínu nebývale vhodné podmínky k odchytu vzorků dané populace. Bylo získáno cca 1700 životaschopných jedinců patogenu, tedy množství mnohonásobně převy-

šující naše možnosti jejich analýzy. Důležité z hlediska dalšího a zde neuváděného využití výsledků však bylo, že byl získán dostatečný počet jedinců z každého úseku odchytové trasy. Náhodně vybrané izoláty byly studovány pomocí třech differenciálních souborů, které dohromady obsahovaly nebývale vysoký počet 60 odrůd. První soubor zahrnoval 15 odrůd s dříve využívanými geny odolnosti, které umožňují porovnání parametrů populace v dlouhé časové řadě. Pomocí tohoto differenciálního souboru bylo prostudováno 25 izolátů z každého úseku, tedy celkem 300 izolátů. Druhý soubor obsahoval 20 odrůd s geny odolnosti přítomnými v současných pěstovaných odrůdách ječmene. Třetí soubor obsahoval 25 odrůd s odolnostmi, vůči kterým jsme dosud v naší genové bance patogenu neměli odpovídající virulence, jejichž odolnost jsme tedy označovali jako plně účinnou (avšak odlišnou od odolnosti *Mlo*) a které byly možnými dárci odolnosti nově šlechtěných odrůd. Z uvedených 300 izolátů bylo pomocí druhého a třetího souboru prostudováno 12 izolátů z každého úseku, tedy celkem 144 izolátů. K vyhodnocení reakčních typů a tím i virulence izolátů byla použita stupnice 0–4 včetně mezitypů (Torp et al. 1978). Další metodické detaily lze nalézt v práci Dreiseitla (2008).

### Výsledky

Průměrná frekvence patotypů zjištěných pomocí prvního differenciálního souboru s 12 diferencujícími odrůdami byla 2,1 izolátů a průměrná frekvence patotypů zjištěných pomocí dalších dvou differenciálních souborů s celkovým počtem 20 diferencujících odrůd byla 1,3 izolátů. Byly zjištěny nové virulence ke čtyřem dosud plně účinným odolnostem obsaženým v odrůdách Burštn, Dubai, Laverda a Oowajao, a to s frekvencí 0,7 až 4,9%, a dvě dosud málo frekventované virulence k odolnostem odrůd Kangoo a Spilk (3,5% a 1,4%). Dále byly nalezeny dva izoláty se vzácnou avirulencí *Avh* (1,4%), které nám usnadní identifikaci genu odolnosti *Mlh*, který je často přítomen především v odrůdách ječmene ozimého a několik patotypů s kombinacemi virulencí, které jsou vhodné k dalšímu rozvoji studia daného patosystému.

### Diskuse

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

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

Genová banka patogenu obsahuje cca 50 referenčních izolátů. Přibližně 30 izolátů, jejichž obměna v genové bance patogenu je rychlejší, reprezentuje výběr ze systematického studia domácí populace. Druhá část genové banky je tvořena stabilnější kolekcí cca 20 izolátů získaných z jiných evropských laboratoří a izoláty vybranými ze studovaných populací patogenu všech kontinentů.

Jak již bylo zmíněno v úvodu, v r. 2008 jsme ke studiu domácí populace použili jako differenciální i novou odrůdu ječmene jarního Kangoo, která byla jedním z reprezentantů odrůd s plně účinnou a pro nás neznámou odolností. S překvapením jsme nalezli hned osm virulentních izolátů, z nichž jsme dva zařadili do genové banky patogenu. Ty jsme použili k testům odolnosti všech odrůd s plně účinnou a dosud neznámou odolností, které jsou obsaženy v naší genové bance hostitele. Zjistili jsme, že stejná odolnost, která je obsažena v odrůdě Kangoo, je přítomna celkem v 18 odrůdách, mj.

i v nejnovějších odrůdách ječmene jarního Henrike a Vista. Analýzou pedigree jsme zjistili dárce této odolnosti, kterým je německá odrůda Roxana, a navrhli evropský kód (Boesen et al. 1996) k jejímu označení (Dreiseitl submitted).

Na základě popsané zkušenosti z roku 2008 jsme v roce 2009 vytvořili samostatný differenciální soubor C, tvořený 25 odrůdami z naší genové banky hostitele, které se vyznačovaly plně účinnou a dosud neznámou odolností. Nalezli jsme izoláty překonávající odolnost devíti z nich. Na základě další analýzy jsme zjistili, že se jedná o izoláty s pěti novými virulencemi. Tyto izoláty nám nyní umožňují provést obdobné studie, jako v případě nálezu virulence k odolnosti odrůdy Kangoo. Pomocí těchto izolátů jsme však již nyní prokázali, že odolnost současných k padlí nejodolnějších odrůd ječmene ozimého Laverda, Wendy a Souleyka má stejný genetický základ (u odrůdy Wendy je přítomen ještě další, dosud neidentifikovaný gen tzv. střední odolnosti).

Z výsledků zaměřených na detekci nových virulencí vyplývá, že při šlechtění nových odrůd ječmene jsou dosud často využívány neznámé monogenně založené specifické odolnosti, a to mnohdy i ty, široce využívané i v jiných šlechtitelských programech. Takovýto postup je možný jen při využívání genu trvanlivé odolnosti *mlo*. V ostatních případech pak zákonitý výskyt nové virulence vyvolává postupné zhroucení odolnosti dané odrůdy, nebo, jako v případě virulence k odolnosti odrůdy Kangoo, hned celé řady pěstovaných odrůd. Jedná se tedy o stále stejnou chybu, kdy je ve šlechtění využívána relativně úzká variabilita nových specifických odolností, přičemž tyto odolnosti nejsou kombinovány k dosažení trvanlivější odrůdové odolnosti.

**Poděkování:** Autor si dovoluje poděkovat pí Dagmar Krejčířové za výbornou technickou asistenci. Příspěvek byl zpracován v rámci projektu MŠMT č. 2532885901.

Adresa autora: dreiseitl.antonin@vukrom.cz

### Literatura:

- Boesen B., Hovmöller M. S., Jørgensen J. H. (1996): Designations of barley and wheat powdery mildew resistance and virulence in Europe. In: Limpert E., Finckh M. R., Wolfe M. S. (eds.): Integrated Control of Cereal Mildews and Rusts: Towards Coordination of Research Across Europe, 2–9, European Commission, Brussels, Luxembourg.  
Dreiseitl A. (2007): Powdery mildew resistance in winter barley cultivars. Plant Breeding 126: 268–273.  
Dreiseitl A. (2008): Virulence frequency to powdery mildew resistances in winter barley cultivars. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 44: 160–166.  
Dreiseitl A. (2009): Proč odrůdy ztrácejí odolnost k chorobám? Obilnářské listy, XVII (3) 82–83.  
Dreiseitl A.: Resistance ‘Roxana’ to powdery mildew and its presence in some spring barley cultivars. Plant Breeding, submitted.  
Dreiseitl A., Dinoor A. (2004): Phenotypic diversity of barley powdery mildew resistance sources. Genetic Resources and Crop Evolution, 51: 251–258.  
Jørgensen J. H. (1994): Genetics of powdery mildew resistance in barley. Critical Reviews in Plant Sciences, 13: 97–119.  
Schwarzbach E. (1979): A high throughput jet trap for collecting mildew spores on living leaves. Phytopathologische Zeitschrift, 94: 165–171.  
Torp J., Jensen H. P., Jørgensen J. H. (1978): Powdery mildew resistance genes in 106 Northwest European spring barley cultivars. Royal Veterinary and Agricultural University Yearbook 1978, 75–102, Copenhagen