

**Odolnost révy vinné proti peronospoře (*Plasmopara viticola*)
z hlediska redoxních potencionálů**
*(The resistance of grape vine against downy mildew (*Plasmopara viticola*)
from the point of redox potentials)*

Benada J., Kroměříž

Souhrn: U révy vinné byly v listech měřeny redoxní potenciály a porovnávány oblasti náchylnosti k peronospoře (*Plasmopara viticola*) z hlediska redoxních potencionálů. Dospělé listy na plodných jednoletých výhonech odolné k peronospoře měly nižší redoxní potenciál než listy zálistkových výhonů. Byla hodnocena variabilita těchto hodnot, jejich gradienty v listech různého pořadí a výsledky byly porovnávány s výsledky získanými z jiných rostlin, především obilnin.

Klíčová slova: réva vinná, peronospora, *Plasmopara viticola*, zálistkový výhon, odolnost, redoxní potenciál, gradienty

Abstract: The redox potentials of grape vine leaves were measured and the areas of susceptibility to downy mildew (*Plasmopara viticola*) were compared with redox potential gradients. The adult leaves on fertile shoots resistant to downy mildew had lower redox potential than susceptible leaves of lateral shoots. The variability of these values and their gradients in leaves of different order was assessed and the results were compared with results obtained from other plants, especially cereals.

Key Words: grapevine, downy mildew, *Plasmopara viticola*, resistance, side branch, redox potentials, gradients

Úvod

Mechanismus odolnosti rostlin k chorobám byl předmětem zájmu výzkumu od počátku fytopatologie jako vědy. Vysvětlování vždy bylo spojeno se stavem znalostí, které odrážely rozvoj určitého obecnějšího vědního úseku v daném časovém období. Základní úloha je připisována mechanismu rozpoznávání hostitele parazitem. V poslední době nabyla otázka závažného významu s genovými manipulacemi a snahou využít pro šlechtění tzv. odolnost nehostitelských rostlin. Bez znalosti podstaty odolnosti nebudeme vědět, které geny přenášet z cizorodých rostlin a zda tento směr má vůbec význam. I když byly formulovány některé hypotézy na základě dílčích výsledků s jednotlivými parazity, vždy se ukázalo, že zevšeobecnění není možné a řešení problému bude třeba hledat v zásadě novém přístupu.

Biofyzikální stavy byly studovány od roku 1963 na obilninách a jejich parazitech (padlí travní a rzi), na dalších rostlinách jako jsou brambory a rajčata a jejich parazité (plíseň bramboru), okurka (plíseň okurky), dále na slunečnici, hrachu, lnu a jiných. Za základ byla vzata tzv. proměnlivá odolnost (někdy zvaná polní odolnost, rasově nespecifická odolnost, částečná odolnost, horizontální odolnost, obecná odolnost), i když se obsah těchto pojmů kryje s proměnlivou odolností jen částečně, což jen odráží neznalost podstaty odolnosti. Nejvíce experimentální práce bylo provedeno s padlím travním na ječmeni a pšenici. Pojem "proměnlivá odolnost" zahrnuje takovou odolnost, která se mění během ontoge-

neze hostitele a vlivem vnějších podmínek. Tato odolnost je charakterizována:

- 1) gradientem choroby na rostlině,
- 2) změnou náchylnosti orgánů rostliny během ontogeneze a růstu,
- 3) rozdílnou náchylností jednotlivých buněk ležících blízko sebe,
- 4) relativně rychlou změnou odolnosti i během několika hodin.

Jestliže byly stanoveny vlastnosti této odolnosti, bylo jasné, že odolnost nemůže spočívat v nějaké živině nutné pro parazita, ale v nějakém velmi dynamickém faktoru. Postupně byla pozornost soustředěna na změny biofyzikálních stavů, především redoxního potenciálu (RP).

Materiál a metodika

Redoxní potenciály v aerobních podmínkách byly měřeny metodikou používanou již od roku 1964 (Benada 1996). Předkládané výsledky jsou uváděny v hodnotách přímo naměřených, není tedy proveden přepočet na potenciál nasycené kalomelové elektrody (+244 mV). Měření bylo prováděno u odrůdy révy Prim.

Výsledky a diskuze

Pro porozumění výsledkům měření RP u révy je třeba se seznámit s výsledky měření na obilninách a jiných rostlinách (Benada 1998), kde výzkum byl prováděn po dlouhou dobu a kde je k dispozici mnoho měření. Réva byla vybrána jako další příklad použití závěrů o podstatě odolnosti založených na biofyzikálních stavech rostlinných pletiv.

Tab. 1: Porovnání RP starších listů na plodném osečkovaném letorostu a mladých zálistkových listů. Hodnoty v mV.

Dospělé listy	+28,	+10	+16	+30	+24	+17
Zálistkové listy	+40	+59	+48	+53	+36	+38

Průměry RP dospělých listů: +21 mV, průměr RP zálistkových listů: +46 mV

Tab. 2: Variabilita RP napadených zálistkových listů. Listy odebírány od spodní části zálistkového výhonu, na každém řádku listy jiného výhonu

+76	+62	+78	+66
+55	+51	+49	+57

Hodnota RP napadených listů různých zálistkových výhonů se může lišit, i když v obou skupinách RP leží v oblasti náchylnosti

Tab. 3: Rozdíly RP v polovinách čepelí napadených listech zálistkových výhonů, listy brány k měření od báze výhonu. Vrcholové listy drobné, vrchol měřen jako celek. V prvním řádku měl výhon 4 listy, ve druhém řádku měl výhon jen 3 listy

+77,+74	+74, +68	+68, +78	+64, +49	Vrcholové listy +12
+60,+60	+56,+55	+45, +47		Vrcholové listy +18

RP listu na plodném letorostu (bez plísňě) +26

Spodní listy měly vyšší RP než listy výše položené. U některých listů byl rozdíl RP v obou půlích čepele až 15 mV, u jiných nebyl zjištěn rozdíl.

Tab. 4: RP jednoho zdravého listu z plodného letorostu, velký list rozdělen na menší úkrojky a RP měřen v každé části samostatně

+35	+23	+20	0	+13	+11
-----	-----	-----	---	-----	-----

V jednotlivých úkrojcích tohoto listu byl zjištěn rozdíl RP až 35 mV.

Mladé listy odrůdy Prim na zálistkových výhonech (fazochy) byly napadené v různém stupni peronosporou révou (*Plasmopara viticola*). Listy plodných letorostů, na nichž zálistky vyrůstaly, byly v období květu (to je před šedesáti dny) ošetřeny fungicidem (Champion). Měření bylo provedeno v polovině srpna aerobním postupem na spodní bod obratu.

Gradient RP listů révy

- 1) Nejmladší drobné vrcholové listy mají nízký RP (kolem +15 mV). Lze předpokládat, že ve vrcholových pupenech bude RP ještě nižší. Tyto hodnoty charakterizují odolnost.
- 2) Dospělé listy na plodném letorostu mají RP o něco vyšší – kolem +21 mV a jsou odolné,
- 3) Zálistkové listy mají RP ještě vyšší – kolem +46 mV a jsou náchylné.

Během vývoje letorostů RP jejich listů stoupá od nízkých hodnot k vyšším, pak RP počne klesat. I listy na plodných letorostech procházely stadiem náchylnosti, ale v tomto období (kolem květu) byly ošetřeny fungicidem nebo nebyly podmínky počasí vhodné pro infekci. Podobně listy zálistkových výhonů v rané fázi jsou odolné (nízký RP). Pokud by ale nebyly vhodné podmínky pro infekci peronosporou při stárnutí těchto listů, prošly by i tyto listy obdobím náchylnosti bez napadení. Po zestárnutí i tyto listy se dostanou do stadia odolnosti.

U révy (ale i u jiných dřevin) bude zřejmě nízký RP vázán na místa dělivých pletiv v úžlabních pupenech listů plodného letorostu a na vrcholku každého výhonu, tedy i zálistkového, a rostoucích částech kořenu.

RP u listů obilnin při dospívání klesá, pak stoupá (vyšší RP značí náchylnost k padlí, rzem a dalším chorobám), nízký RP u čepelí listů sloupkujících rostlin značí výraznou odolnost především v době sloupkování.

U révy: při dospívání RP listů stoupá (náchylnost k peronosporě). Spodní listy na výhonech mají nejvyšší RP v rámci zálistkové větve a jsou napadány dříve než horní (nejmladší) listy.

Poněvadž existují rozdíly v hodnotách RP i v rámci jednoho listu, nelze přesně stanovit hodnotu RP pro odolnost nebo náchylnost. Mnohem přesnější hodnoty pro odolnost nebo náchylnost by bylo možno získat měřením RP v jednotlivých buňkách. Pro tato měření není prozatím vyvinuta technika.

Další diskuze a vysvětlení významu RP pro odolnost révy bude navazovat na výsledky měření RP především u obilnin i jiných rostlin, kde se za padesát let získalo mnoho výsledků (Benada 2012). Především bylo zjištěno, že RP se zákonitě mění vlivem ontogeneze a vlivem vnějších podmínek. Redoxní elektrodou zjišťujeme okamžitý stav redoxní soustavy vázané na enzymatický systém spojený dýcháním. Povařením nebo rozdrčením rostlinných pletiv se tento proces ničí (Benada 2009). Dehydrogenáza je poměrně odolná k varu na rozdíl od oxidázy. Dehydrogenáza a terminální oxidáza jsou přísně specifické vůči přenašeči elektronů, který je rozpustný ve vodě a může difundovat ven z buňky.

Závěr o podstatě proměnlivé (stadijní) odolnosti

Na vysvětlení mechanismu podstaty odolnosti se tedy podílejí 2 druhově specifické enzymatické systémy: dehydrogenáza a terminální oxidáza, a jeden druhově specifický přenašeč elektronů zapojený do dýchání. Toto stejně platí pro hostitele i parazita. Parazit nemá sám o sobě dostatečně výkonnou terminální oxidázu, nachází ji ale v hostiteli.

Přenašeče elektronů mají tyto vlastnosti:

- 1) jsou ve vodě rozpustné, difundují z buňky ven i dovnitř, některé ve formě par (kokotice)
- 2) nejsou oxidovány vzdušným kyslíkem
- 3) v buňkách není volný kyslík, veškerá oxidace přenašeče elektronů probíhá enzymaticky specifickou terminální oxidázou ve stěně buněčné
- 4) redukce substrátů v buňce dehydrogenázami, které jsou vysoce specifické pro daný přenašeč elektronů
- 5) hostitel i parazit mají rozdílné nosiče elektronů
- 6) pokud se setkají redoxní systémy parazita a hostitele v buňce, mohou navzájem při nevhodném RP reagovat. Při tom produkty této reakce se liší od oxidace, kterou provádí terminální oxi-

dáza. Tyto produkty buňka nemůže použít pro vlastní dýchání. Proto infekční proces se při nevhodném RP v hostiteli zastaví, na straně hostitele vznikne jen hnědě zbarvená buňka nebo chloróza podle hodnoty pH. Na straně hostitele je vyšší koncentrace přenašečů, hostitel nevhodnou oxidací přežije, parazit však odumírá spolu s infikovanou buňkou. Podstatou odolnosti rostlin ke specifickým chorobám, ale i nehostitelské odolnosti, je možnost parazita dýchat v hostitelské buňce nebo pletivu a získávat energii pro své metabolické pochody a nikoli nějaká specifická živná látka.

Molekulární genetika

V současné době je snaha řešit problém vztahu mezi parazitem a hostitelem, tedy i podstaty odolnosti metodami molekulární biologie. Při tom se vychází z toho, že vztah mezi parazitem a hostitelem u rostlin je obdobný jako u živočichů. Předpokládá se, že i dýchací proces má stejné složky u obou těchto skupin živých bytostí. Protože u živočichů a především v humánní medicíně je výsledků nepoměrně více než u rostlin, je snaha metody i výsledky získané v této oblasti aplikovat i u rostlin. Situace v současné době je taková, že výzkum vztahu mezi parazitem a hostitelem se připouští a priori pouze metodami molekulární biologie. Publikací o tomto výzkumu je velmi mnoho. Zde uvádím jen souhrnnou práci Doddse a Rathjena (2010) a z publikací o vztahu parazitů a révy práci Dadákové a Kašparovského (2012). Pracovníci na úseku molekulární biologie neberou v úvahu dynamický charakter podstaty odolnosti v rostlině.

Závěr

U révy byly nalezeny gradienty redoxních potenciálů, z nichž lze odvodit stadijní náchylnost k peronospoře révy. Starší listy na plodných výhonech s nižším redoxním potenciálem jsou odolné, listy na zálistkových výhonech jsou nejdříve odolné, pak náchylné a po zestárnutí opět odolné podle změn redoxního potenciálu.

Stadijní odolnost rostlin se mění během růstu a vývoje, lze ji měřit jako redoxní potenciál a lze ji využívat pro integrovanou ochranu rostlin pro snížení nákladů na chemickou ochranu. Poznatků lze využít i ve šlechtění na rasově specifickou odolnost, protože určuje, v čem spočívá tak zvaná nehostitelská odolnost rostlin. V současné době se věnuje největší pozornost molekulárně biologickým metodám, ale není známo, který gen nebo jejich kombinace odolnost podmiňují.

Literatura

- Benada J. (1966): The gradients of oxidation-reduction potentials in cereals and the dependence of obligate parasites on the redox potentials of the host. *Phytopath. Z.* 55 :265–290.
- Benada J. (1998): Význam biofyzikálních stavů pro fytopatologii a fyziologii rostlin. *Agro. č.5*, 55–63).
- Benada J. (2009): Non-invasive method of redox potential measurement.- Neinvazivní metoda měření redoxních potenciálů u rostlin. *Ob. Listy* 17:15–18.
- Benada J. (2012): Význam redoxních potenciálů a pH pletiv rostlin pro jejich rezistenci k chorobám a pro fyziologii rostlin. Redox potential and pH in plants and their function in the mechanism of resistance to diseases and in plant physiology .Agrotest fyto, s.r.o., Zemědělský výzkumný ústav, s.r.o. Kroměříž.
- Dadáková K., Kašparovský T. (2012): Obranná reakce révy vinné proti houbovým patogenům. *Rostlinolékař* 23:12-14, číslo 5.
- Dodds, P. N., Rathjen J. P. (2010) : Plant immunity: towards an integrated view of plant-pathogen interactions .*Nature reviews/ Genetics* 11:539–548.

/Recenzováno/

Kontakt: benada@vukrom.cz

