

# Hodnocení rezistence pšenice k braničnatce pšeničné

(Evaluation of wheat resistance to *Septoria tritici blotch*)

Chrpová, J., Šíp, V., Palicová, J.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha 6 – Ruzyně, Drnovská 507

**Souhrn:** Reakce odrůd pšenice ozimé na infekci vybranými izoláty braničnatky pšeničné (*Mycosphaerella graminicola*) byla hodnocena v polních infekčních pokusech v ročnících 2012-2014 na dvou stanovištích. Pokusy s 5 odrůdami ozimé pšenice lišícími se v rezistenci k napadení braničnatkou pšeničnou ukázaly shodu v odrůdové reakci na inokulaci 9 geneticky divergentními izoláty a směsí vybraných izolátů z území ČR. Bylo zjištěno, že specifické reakce na některý izolát jsou na našem území zřejmě ojedinělé. Byla prokázána opodstatněnost použití vhodně zvolené směsi izolátů pro inokulace při hodnocení rezistence odrůd a šlechtitelských materiálů.

**Klíčová slova:** pšenice; *Mycosphaerella graminicola*, izoláty, hodnocení rezistence, vliv prostředí

**Abstract:** Response of winter wheat varieties to infection with selected *Mycosphaerella graminicola* isolates was evaluated in field infection trials performed during 2012-2014 at two locations. In these experiments the five varieties differing in resistance to leaf blotch showed rather similar response to inoculation with nine genetically divergent isolates (collected in the territory of Czech Republic) and isolate mixture. Specific variety responses to certain isolates were not common. For evaluation of resistance of varieties and breeding lines to this disease we can recommend inoculation of plants with the suitable isolate mixture.

**Key Words:** wheat, *Mycosphaerella graminicola*, fungus isolates, resistance evaluation, environmental effects

Hnědé listové skvrnitosti patří k významným chorobám pšenice. Z dlouhodobých šetření vyplývá, že v současné době je v České republice, podobně jako v západní Evropě, neškodlivějším původcem listových skvrnitostí braničnatka pšeničná, a to na úkor dříve široce rozšířené braničnatky plevové, která měla u nás největší význam v osmdesátých letech minulého století, zejména ve vyšších polohách. Monitoring výskytu hnědých listových skvrnitostí na území České republiky dále ukázal v některých letech (2000, 2003, 2004 a 2011) převládající výskyt světle hnědé skvrnitosti pšenice, jejímž původcem je *Pyrenophora tritici-repentis*. V posledních dvou letech však byl výskyt tohoto původce nižší.

Šíření braničnatky pšeničné je závislé na vlhkosti, která je podmínkou šíření a klíčení spór. Šíří se na kratší vzdálenosti rozstříkáním dešťovými kapkami. Infekce probíhá na listech, na nichž se udržuje vlhkost dostatečně dlouhou dobu (nejméně 20 hodin). Vysoké teploty ve vegetačním období zpomalují růst mycelia; optimální teplotní rozmezí pro jeho růst je 17-20 °C. Sucho a vysoké teploty na napadených rostlinách způsobují rychlejší nekrotizaci listů, úbytek asimilační plochy a odumírání rostlin. Příznaky onemocnění se mohou objevit na listech pšenice již na podzim v podobě oválných nekrotizujících skvrn na vzcházejících ozimech. Zdrojem primární infekce jsou především posklizňové zbytky, na nichž na podzim dozrávají pseudothecia. Z nich se uvolňují askospóry, které se dostávají na pšenici. Zdrojem inokula ale mohou být kromě pšenice i jiné náchylné druhy (ječmen, tritikale, žito či plané druhy trav). Na podzim se choroba vyskytuje zejména na velmi časně setých porostech pšenice.

Fungicidní ochrana se provádí podle signalizace od BBCH 37 do BBCH 51, většinou jako součást ochrany proti komplexu chorob. Závažným problémem je správné načasování fungicidního ošetření, s čímž souvisí potřeba identifikace meteorologických podmínek a časového momentu, kdy hrozí propuknutí epidemie (Henze *et al.*, 2007). Při řešení fungicidní ochrany je také nezbytné respektování pravidel antirezistentní strategie, neboť byl v řadě zemí potvrzen výskyt kmenů rezistentních ke strobilurinům.

Rezistence je podmíněna jak rasově specifickými geny velkého účinku, tak nespecifickými geny pro parciální rezistenci. Je také obecně známo, že nespecifická (polygenní) rezistence je trvalej-

šího charakteru než rezistence rasově specifická, a tudíž šlechtitelsky potřebnější, i když obtížněji dosažitelná. Výsledky genetických studií ukazují, že efektivní šlechtitelskou strategií s trvalejším efektem představuje kumulace více různých genů rezistence. Bylo detekováno a zmapováno celkem 18 genů (*Stb*) podmiňujících rezistenci k napadení braničnatkou pšeničnou (*M. graminicola*), z nichž zvláště *Stb6* a *Stb15* jsou běžné v sortimentu evropských odrůd pšenice (např. v rezistentní odrůdě Arina).

Na základě hodnocení napadení odrůd pšenice ozimé v tříletých pokusech na stanovišti VÚRV, v.v.i. v Humpolci, bylo zjištěno, že průměrné rozdíly ve stupni napadení nebyly mezi současnými komerčně využívanými odrůdami velké. Nejmenší napadení braničnatkou pšeničnou bylo v tomto pokuse zjištěno u odrůd Pitbull, Raduza, Brilliant, Kodex a Federer (Chrpová a kol., 2012).

Ve šlechtění i v odrůdovém zkušebnictví je nejvíce využíváno testování rezistence u rostlin v polních podmínkách, protože zřejmě nejlépe vypovídá o rezistenci či náchylnosti odrůdy při běžném pěstování. Dosažení požadované trvalé rezistence je evidentně spojeno se stabilitou projevu v různých podmínkách prostředí (Schilly *et al.* 2011). Specifitě reakce na určitý izolát je tak zjevně nadřazen efektu podmínek prostředí, z čehož vyplývá potřeba opakovaného testování v různém prostředí (v různých lokalitách a ročnících). Výrazně nižší účinek na redukci výnosových znaků HTS i hmotnost zrna na klas vlivem infekce měl použitý izolát (2 %) v porovnání s vlivem prostředí (15-22 %), vlivem rezistence odrůdy (30-37 %) a interakčními složkami rozptylu (35-39 %). Průběh infekce nepochybně významně ovlivňuje i stárnutí pletiv hostitelských rostlin v interakci s parazitem a dalšími vlivy, což podrobně popsal Benada 2012 a 2014. Cílem tohoto příspěvku je přinést aktuální informace o efektu izolátů použitých pro umělou infekci a o vlivu prostředí na projev rezistence odrůd pšenice ozimé.

## Materiály a metody

Reakce odrůd pšenice ozimé na infekci vybranými izoláty braničnatky pšeničné byla hodnocena v polních infekčních pokusech v ročnících 2012-2014 na pracovištích VÚRV, v.v.i. (Praha - Ruzyně a Humpolec).

Symptomatické hodnocení	Průměr (patogenita)	Odrůda	Prostředí	Interakce O x P	Odrůda/ interakce OxP
IZ 0117	4,74	58,5	32,7	5,5	10,62
IZ 1081	4,57	80,5	7,4	10,4	7,74
IZ 0385	4,18	43,5	38,4	15,8	2,75
IZ směs	4,01	54,6	27,8	15,1	3,62
IZ1039	3,89	56,8	32,7	9,4	6,07
IZ 0162	3,79	77,6	8,0	12,4	6,28
IZ 1040	3,68	70,8	13,4	12,9	5,47
IZ1061	3,62	71,7	4,4	16,7	4,29
IZ 1008	3,53	63,4	10,1	18,5	3,42
IZ1054	3,26	77,7	9,2	8,7	8,95
Průměr	3,93	66,3	18,42	13,3	5,40
Suma % napadení horních 2 listů	Průměr (patogenita)	Odrůda	Prostředí	Interakce O x P	Odrůda/ interakce OxP
IZ 117	41,0	9,4	85,9	4,0	2,33
IZ 1081	57,8	49,0	45,0	4,5	10,94
IZ 385	62,4	17,7	75,8	5,9	2,99
IZ směs	65,4	24,7	67,9	6,2	4,01
IZ 162	67,7	32,7	57,9	7,8	4,20
IZ1039	68,6	15,0	81,2	3,3	4,50
IZ 1008	72,8	31,3	57,4	9,3	3,37
IZ 1040	73,3	19,4	73,6	5,1	3,80
IZ1061	74,2	20,9	69,8	6,5	3,23
IZ1054	80,3	28,2	65,0	5,7	4,93
Průměr	66,4	22,8	67,95	5,8	3,99

Tabulka 1: % podíl variability vlivem odrůdy (O) a vlivem prostředí (P) pro jednotlivé izoláty z analýz rozptylu na základě hodnocení symptomatického projevu (1-9; 9-bez příznaků) a % napadení plochy dvou horních listů. Izoláty jsou řazeny vzestupně podle stupně jejich patogenity.

Pro umělou infekci byly zvoleny izoláty ze sbírek (ČZU Praha, VÚRV v.v.i. Praha). Pro výběr izolátů byla rozhodující jejich agresivita, molekulární charakteristika (Drabešová a kol., 2013), zastoupení různých oblastí ČR, odolnost k fungicidům – strobilurinům a rozhodovala také sporulace a vitalita na kultivačním mediu. Na základě výše uvedených charakteristik byly vybrány následující izoláty: 0117 (Ústí n. Orlicí), 0162 (Praha), 0385 (Kroměříž), 1008 (Kroměříž, 2011), 1039 (Jihlava, 2011), 1040 (Jihlava, 2011), 1054 (Opava, Otice 2011), 1061 (Opava, Štěbořice, 2011), 1081 (Cheb, Hazlov, 2011) a směs izolátů (0117-dlouhodobě využíván, 1039 – silná agresivita, odolnost k fungicidům, 1081 – specifický projev).

V pokusech s 5 odrůdami ozimé pšenice, lišícími se v rezistenci k napadení braničnatkou pšeničnou (Arina, Mulan, Bohemia, Bakfis a Seladon), byl uplatněn tzv. hnízdový výsev ve sponu 40x40 cm po 30-40 zrnech na hnízdo, který umožňuje vytvořit příznivější mikroklima pro rozvoj choroby. Pokusy měly dvě opakování. Infekce byla bezprostředně po inokulaci podpořena zakrytím plastickými sáčky po 24 hod. Pro podpoření infekce byla také k dispozici mikrozávlaha. Jednotlivé pokusné varianty (bloky infikované jednotlivými izoláty braničnatky pšeničné) byly chráněny neinfikovaným obsevem. Na stanovišti v Ruzyni byla použita středně odolná, vysoká a nepoléhavá odrůda ozimé pše-

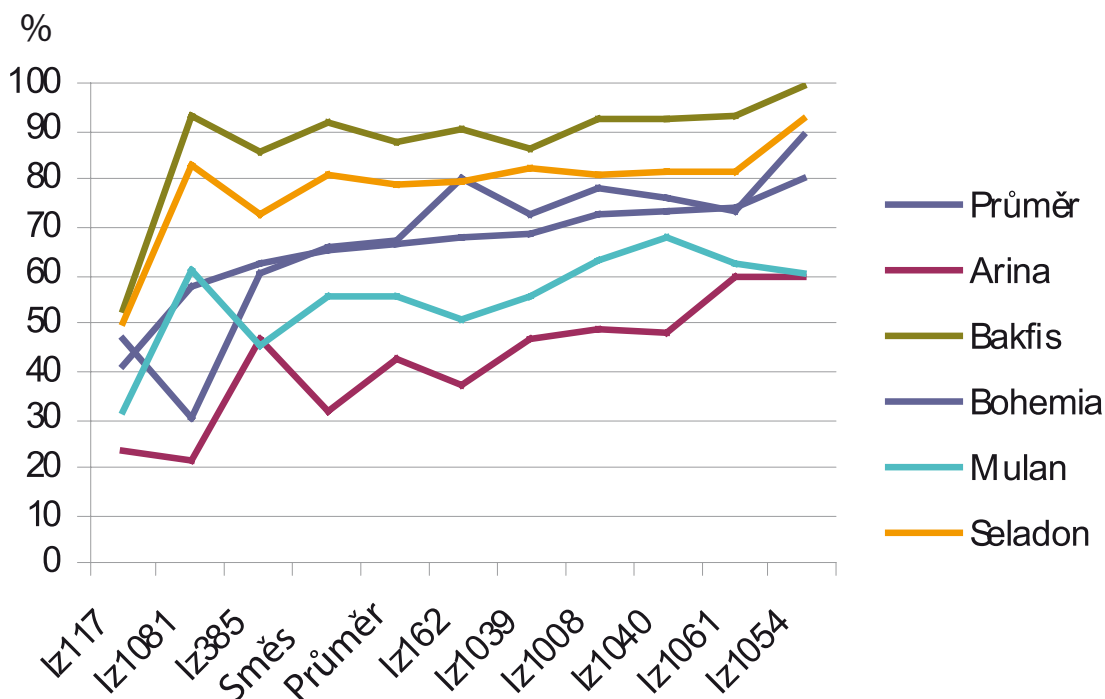
nice Bohemia; na stanovišti v Humpolci nepoléhavá odrůda triticale.

První postřik inokulem byl proveden před objevením praporcového listu (od fáze BBCH 39). Postřik byl opakován po 10-14 dnech. Do suspenze spor bylo přidáno smáčedlo Tween 20 (1 kapka/100 ml).

Hodnocení odrůd bylo provedeno ve 2 termínech, které představovaly vrchol a konec vývoje choroby (Risser et al., 2011). Pro hodnocení byl použit 9-bodový systém hodnocení, který je využíván při hodnocení ÚKZÚZ a ve šlechtění. Tento systém zohledňuje jak rychlost šíření infekce do horních pater rostliny, tak stupeň poškození listové plochy (Šíp a kol., 2001). Dále bylo stanoveno procento napadení listové plochy posledních dvou listů (suma % plochy 1. a 2. listu se skvrnami nesoucími pyknidy), které se provádí obvykle vizuálně za pomoci klíčů (marker pro hodnocení procentuálního napadení listové plochy podle Jörga a Ellmera – nepublikováno).

#### Výsledky a diskuse

Pokusy s 5 odrůdami ozimé pšenice lišícími se v rezistenci k napadení braničnatkou pšeničnou (Arina-rezistentní, Mulan-mírně rezistentní, Bohemia – střední odolnost, Bakfis, Seladon – náchylné odrůdy) ukázaly v základě shodu v odrůdové reakci na inokulaci 9 geneticky divergentními izoláty a směsí vybraných



Obr. 1: Průměrná suma procentického napadení plochy dvou listů (průměr dvou termínů hodnocení) po inokulaci 5 odrůd vybranými izoláty braničnatky pšeničné (pokusy 2013 a 2014 na dvou stanovištích)

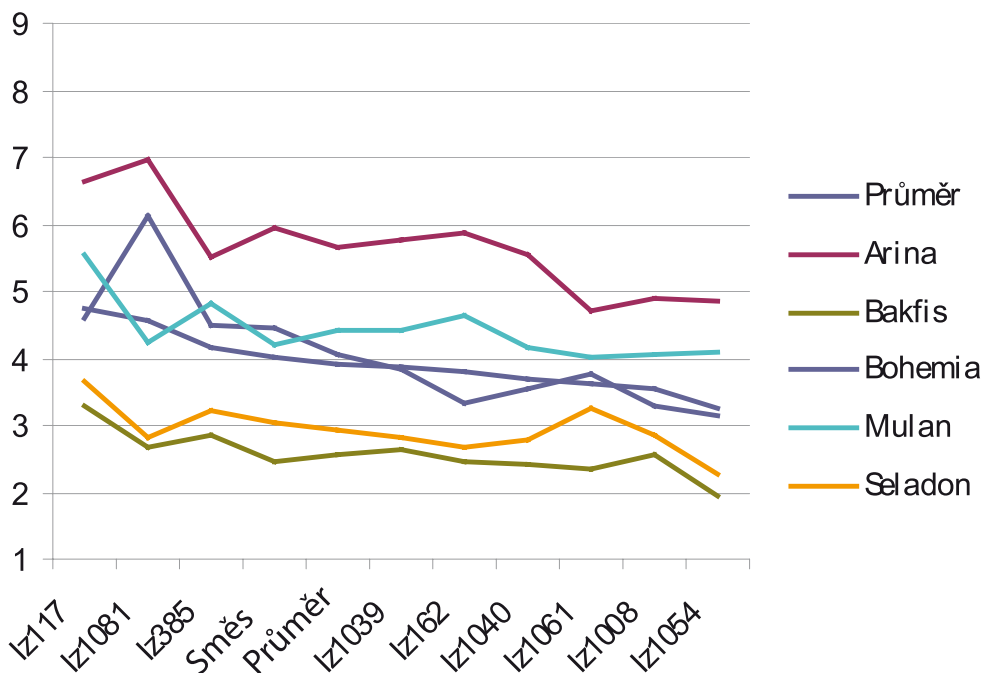
izolátů z území ČR (obr. 1 a 2). Nejnižší stupeň napadení vykazala prakticky ve všech případech odrůda Arina (shodný symptomatický projev pro odrůdy Arina a Mulan byl u podprůměrně patogenního izolátu 0385). Nejvíce specifický byl projev relativně méně patogenního izolátu 1081, který se vyznačoval relativně nejvyšší genetickou proměnlivostí (tabulka 1), avšak odrůda Mulan byla tímto izolátem klasifikována jako středně odolná a odrůda Bohemia jako rezistentní (obr. 1).

Jak ukazuje tabulka 1, relativně vyšší byl podíl genetické proměnlivosti u symptomatického hodnocení 9-bodovou stupnicí než u % napadení listové plochy, kdy se výrazněji projevil vliv ročníku a lokality. Vedle vysokého podílu genetické proměnlivosti je nepochybně dále žádoucí nízký podíl interakční složky proměnlivosti. Specificky reagující izolát 1081 se vyznačoval vysokou hodnotou poměru odrůdové a „interakční“ proměnlivosti a pro symptomatické hodnocení byla nejvyšší hodnota tohoto poměru zjištěna u podobně méně patogenního izolátu 0117, který však jednoznačně nevyhovoval pro posouzení % napadení listové plochy (statisticky se nepodařilo prokázat významnost rozdílů mezi odrůdami ve stupni rezistence). Také vysoce patogenní izolát 1054 vykazoval vysoce příznivý poměr mezi genetickou a interakční proměnlivostí. Obecně však příznivost použití vysoce patogenního izolátu pro testování rezistence nebyla prokázána (korelace mezi stupněm patogenity a výše zmiňovanými charakteristikami proměnlivosti nebyly signifikantní). Diverzifikace odrůd (Arina > Mulan > Bohemia > Seladon > Bakfis) podle stupně rezistence byla jednoznačná (rozdíly signifikantní) po zahrnutí všech izolátů. Použití takového počtu izolátů jako v této studii je však z technického hlediska těžko proveditelné. Je tedy nezbytný výběr vhodných izolátů či jejich směsí. Je příznivé, že se po použití většiny izolátů výše zmíněné pořadí odrůd dle stupně jejich rezistence nelišilo (signifikantní byly pouze rozdíly v klasifikaci rezistence odrůd Mulan a Bohemia po použití izolátu 1081). Poměrně časté bylo začlenění odrůd Mulan a Bohemia do stejné homogenní skupiny; podobně se často neprokázala odlišnost odrůd Seladon a Bakfis.

Pokusy s braničnatkou pšeničnou na území ČR ukázaly, že spíše než investovat do testování reakce na jednotlivé vybrané izoláty se vyplatí testování v rozdílných podmínkách prostředí a výběry materiálů vykazujících stabilitu reakce v rozdílných podmínkách prostředí. Významným výsledkem této studie s dopadem do šlechtitelské praxe je především zjištění, že specifické reakce na některý izolát jsou na našem území zřejmě ojedinělé a vhodná směs zahrnující divergentní izoláty by měla požadavky uspokojit. Testy rezistence by se měly opírat o izoláty vyvolávající vysoce převládající hostitelskou reakci. V našich pokusech s 9 vybranými izoláty *Mycosphaerella graminicola* a se směsí vybraných izolátů, které probíhaly ve 4 typech prostředí, byla prokázána opodstatněnost použití vhodné zvolené směsi izolátů pro inokulace. Směs izolátů *S. tritici* splňující tyto požadavky byla doporučena pro využití ve šlechtění a zkoušení odrůd.

Závěry získané z polních infekčních testů je vhodné konfrontovat s výsledky získanými v podmínkách přirozené infekce, kdy se spektrum patogenů může projevit v celé šíři (Francki, 2013).

V literatuře velmi ojedinělé, ale ekonomicky nejzávažnější, je zjišťování redukce výnosových znaků (hmotnosti 1000 zrn a hmotnosti zrn na klas) vlivem infekce. Toto šetření je pracně náročné a vyžaduje minimalizaci ovlivnění jinými faktory (jinými chorobami či lokálními vlivy prostředí). Základem je získání pokud možno co nejpřesnějších údajů o projevu těchto znaků z kontrolní varianty. Za neextrémních podmínek se procentní redukce hmotnosti zrn na klas (HZK) působené těmito listovými patogeny v průměru pohybují v našich podmínkách kolem 16 % (Horčíčka et al., 2001; Šíp et al., 2003). Na základě zde popisovaných pokusů byly průměrné redukce HTZ po umělé infekci braničnatkou pšeničnou 14,4 % a redukce HZK 29,6 %. Značné rozdíly v redukci HTZ i HZK byly zjištěny mezi rezistentní odrůdou Arina (6,1 %, resp. 18,2 %) a náchylnou odrůdou Bakfis (22,7 %, resp. 36,5 %). Oproti udávané průměrné redukci HZK 16 % lze tak při dosažení mírné rezistence (Arina) snížit výnosové ztráty na 9,6 % (o více než 40 %). U náchylných odrůd lze očekávat přibližně 20 % redukci.



Obr. 2: Průměrné hodnocení (ve dvou termínech) symptomatického projevu (1-9 ; 9-bez příznaků) po inokulaci 5 odrůd pšenice vybranými izoláty braničnatky pšeničné (pokusy 2013 a 2014 na dvou stanovištích)

*Mycosphaerella graminicola* in two winter wheat populations. *Phytopathology*, 101 (10): 1209-1216.

Schilly A., Risser P., Ebmeyer E., Hartl L., Reif J.C., Würschum T., Miedaner T. (2011): Stability of adult-plant resistance to *Septoria tritici* blotch in 24 European winter wheat varieties across nine field environments. *J. Phytopathol.*, 159: 411-416.

Šíp V., Stuchlíková E., Chrpová J. (2001): The response of selected winter wheat cultivars to artificial infection with *Septoria tritici* under field conditions. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 37: 73-81.  
 Šíp V., Šárová J., Chrpová J., Sychrová E., Čejka L., Hanišová A. (2003): Breeding wheat for resistance to brown leaf spot diseases in Czech Republic. *Proc. EUCARPIA Cereal Section Meeting*, (C. Maré, F. Faccioli and A.M. Stanca eds.), 21-25 November, 2002, Salsomaggiore, Italy: 303-306.

(Recenzováno)

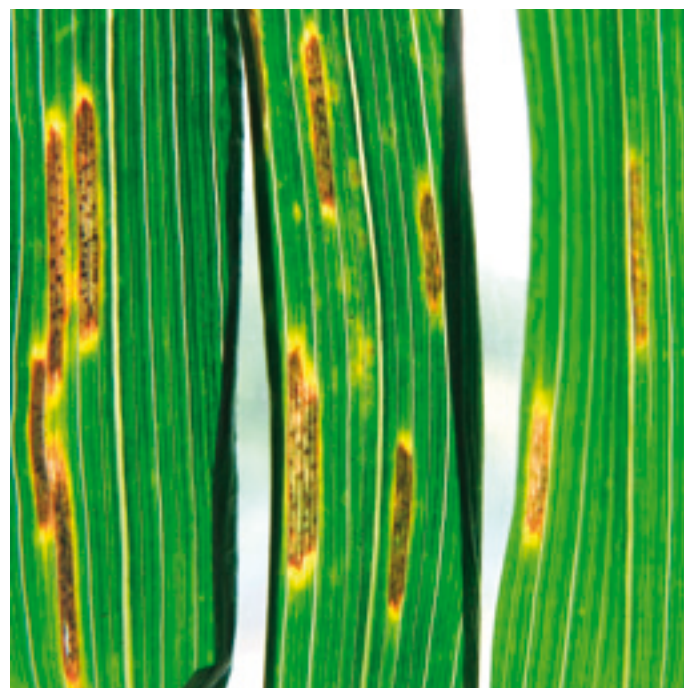
#### Poděkování

Izoláty *Mycosphaerella graminicola* a jejich charakteristika byly získány za podpory projektu NAZV QH81284 „Genotypová diverzita a morfologická variabilita populace *Mycosphaerella graminicola*, identifikace genů rezistence pšenice a studium obranných reakcí pro využití v kontrole braničnatky pšeničné“, jehož odpovědným řešitelem byl ing. L. Věchet, CSc. Vlastní studie byla provedena za podpory projektu NAZV QJ 1210189 „Tvorba a identifikace nových zdrojů kombinované odolnosti k významným chorobám a škůdcům pšenice pomocí polních infekčních testů a molekulárních markerů“.

Ekonomicky závažné hledisko představuje také úspora finančních prostředků v důsledku omezení aplikace chemických ochranných prostředků po dosažení kombinované rezistence k listovým chorobám (a to minimálně o jeden postřik). Obtížně ekonomicky zhodnotitelný, ale ve své podstatě nejzávažnější, je přínos pro ochranu životního prostředí. Vztah hostitel/patogen (parazit) je nepochybně třeba dále studovat. V budoucnu by měla ochranná opatření (fungicidní ochrana) vycházet z hlubších znalostí tohoto vztahu (Benada, 1998).

#### Použitá literatura:

- Benada J. (1998): Význam biofyzikálních stavů pro fytopatologii a fyziologii rostlin. *Agro* : 55-63  
 Benada J. (2012): Význam redoxních potenciálů a pH pletiv rostlin pro jejich rezistenci k chorobám a pro fyziologii rostlin. *Agrotest fyto*, s.r.o., Zemědělský výzkumný ústav, s.r.o. Kroměříž. .  
 Benada J. (2014): Integrovaná ochrana rostlin v teorii a praxi. *Agromanuál*, 4: 36-39  
 Drabešová J., Ryšánek P., Brunner P., McDonald B.A., Croll D. (2013): Population genetic structure of *Mycosphaerella graminicola* and quinone outside inhibitor (QoI) resistance in the Czech Republic. *Eur.J.Plant Pathol.*, 135: 211-224.  
 Francki M.G. (2013): Improving *Stagonospora nodorum* resistance in wheat: A review. *Crop Sci.*, 53: 355-365.  
 Henze M., Beyer, M., Klink, H., Verreet, J. A. (2007): Characterizing meteorological scenarios favorable for *Septoria tritici* infections in wheat and estimation of latent periods. *Plant Dis.*, 91: 1445-1449.  
 Horčíčka P., Marková O., Hanišová A. (2001): Effects of *Septoria* and *Pyrenophora* on reduction of winter wheat yield. *Beitr. Züchtungsforsch.*: 55-59.  
 Chrpová, J., Šíp, V., Hanzalová, A., Čejka, L. (2012): Přehled chorob listů a klasů pšenice. *Farmář*, 18 (6): 26 – 27.  
 Risser P., Ebmeyer E., Korzun V., Hartl L., Miedaner T. (2011): Quantitative trait loci for adult-plant resistance to



Detail napadeného listu pšenice houbou  
 Foto: P. Matušinský – archiv redakce