

Poděkování:

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1123.

Literatura

Božko R. : Kvalita sladovnického ječmene ze sklizně roku 2023. Odborná konference: Jakost obilovin, Kroměříž 8.11. 2023
Brenchley R., Spannagl M., Pfeifer M., Barker GLA., D'Amore R., Allen AM., McKenzie N., Kramer M., Kerhornou A., Bolser D. et al. (2012). Analysis of the bread wheat genome using whole-genome shotgun sequencing. *Nature* 491: 705–710.
Casao MC., Karsai I., Igartua E., Gracia MP., Veisz O., Casas AM. (2011): Adaptation of barley to mild winters: a role for PPDH2. *BMC. Plant Biology* 11: 164.
Cossani C.M., R., Savin G.A. Slafer, Savin R. (2007). Contrasting performance of barley and wheat in a wide range of conditions in Mediterranean Catalonia (Spain), *Annals of Applied Biology* 167-173 .ISSN 0003-4746
Cossani C.M., Slafer G.A., Savin R. (2009). Yield and biomass in wheat and barley under a range of conditions in a Mediterranean site. *Field Crops Research* 112, 205–213
Dawson I.K., Russell J., Powell W., Steffenson B., Thomas W.T.B., Waugh R. (2015). Barley: a translational model for

adaptation to climate change . *New Phytologist* 206: 913–931
Kramer M., Kerhornou A., Bolser D. et al. (2012).: Analysis of the bread wheat genome using whole-genome shotgun sequencing. *Nature* 491: 705–710.
Newton A.C., Flavell A.J., Timothy S. G. Mullholland B., Ramsay L., Giha C.R., Russell J., Steffenson B.J., Swanston S., Thomas W.T.B., Waugh R., White P., J., Bingham I.J. (2011) Crops that feed the world 4. Barley: a resilient crop? Strengths and weaknesses in the context of food security. *Food Sec.* 3,141–178
Saisho D., Takeda K. (2011). Barley: emergence as a new research material of crop science. *Plant Cell Physiology* 52, 724-727
Slafer G., Savin R. (2023). Comparative performance of barley and wheat across a wide range of yielding conditions. Does barley outyield wheat consistently in low-yielding conditions? *European Journal of Agronomy* 143, 1-7.
Váňová M., Jirsa O., Hledík P. (2023). Optimalizace výnosu a kvality jarního ječmene v podmínkách měnícího se klimatu. *Obilnářské listy* 1/2023,15-21.

Yang, J., Zhang, J. (2005). Grain filling of cereals under soil drying. *New Phytol.* 169, 223–236.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01597>.

Hodnocení reakce hlavních houbových patogenů obilovin na vybrané fungicidní účinné látky

(Evaluation of the response of major cereal fungal pathogens to selected fungicide active compounds)

Matušinsky Pavel, Bleša Dominik, Čapková Martina,
Hambálková Markéta, Tvarůžek Ludvík
Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787, Kroměříž

Souhrn: V současné době se zemědělská produkce potýká s rostoucí četností rezistence houbových patogenů obilovin vůči běžně používaným fungicidům. Tato situace zdůrazňuje potřebu pravidelného monitorování a hodnocení reakcí patogenů na různé účinné látky. V naší práci se zaměřujeme na systematický průzkum rezistence hlavních houbových patogenů obilovin, který provádíme s cílem identifikovat dynamiku vývoje na našem území. Tento průzkum je nezbytný pro včasnou identifikaci rizik a umožňuje nám formulovat doporučení pro pěstitele na základě nejnovějších zjištění. V roce 2023 došlo k výraznému snížení citlivosti populací *M. nivale*, *Z. tritici* a *R. collo-cygni* ke strobilurinové látce azoxystrobin. Vysoké procento izolátů *Z. tritici* vykazovalo také sníženou citlivost k prothioconazolu.

Klíčová slova: *Microdochium* spp., *Oculimacula* spp., *Zymoseptoria tritici*, *Ramularia collo-cygni*, prothioconazole, mefentrifluconazole, azoxystrobin, fluxapyroxad, fencicoxamid, monitoring, rezistence

Abstract: Currently, agricultural production is facing an increasing frequency of resistance of fungal pathogens of cereals to commonly used fungicides. This situation highlights the critical need for regular monitoring and evaluation of the response of these pathogens to different active substances. In our work, we focus on a systematic survey of resistance in the main fungal pathogens of cereals, which we conduct in order to identify the dynamics of development in our region. This survey is important for early identification of risks and allows us to formulate recommendations for growers based on the latest findings. Significant decrease of sensitivity in populations of *M. nivale*, *Z. tritici* a *R. collo-cygni* to strobilurine azoxystrobin occurred in 2023. High number of *Z. tritici* isolates showed lower sensitivity to prothioconazole, too.

Key Words: *Microdochium* spp., *Oculimacula* spp., *Zymoseptoria tritici* a *Ramularia collo-cygni*, prothioconazole, mefentrifluconazole, azoxystrobin, fluxapyroxad, fencicoxamid, monitoring, resistance

Úvod

Rezistence k pesticidním látkám představuje problém po celém světě, který se zintenzivňuje v případech, kdy organismy vyvíjejí násobnou rezistenci vůči různým účinným látkám. Tento problém je závažný, jak je vidět na příkladech rezistence plevelů k herbicidům, hmyzích škůdců k insekticidům a houbových patogenů k fungicidům. Opakované používání fungicidů s jediným mechanismem účinku vytváří selekční tlak, který upřednostňuje k pesticidu odolné jedince, čímž se zvyšuje prevalence rezistentního genu v populaci. Rozsah této rezistence je ovlivněn různými faktory, včetně reprodukčního potenciálu fytopatogenních druhů. Houbové patogeny způsobující choroby obilovin, jako je padlí nebo ramuláriová skvrnitost listů ječmene způsobená *Ramularia collo-cygni*, patří mezi patogeny s vysokým rizikem vzniku rezistence. Další druhy patogenů, jako jsou *Oculimacula* spp., *Microdochium* spp., *Zymoseptoria tritici* a *Pyrenophora teres*, patří mezi houby s mírným rizikem rozvoje rezistence na fungicidy. Přitom právě u této skupiny patogenů bylo v nedávné minulosti zaznamenáno významné zvýšení rezistence, a to zejména v důsledku intenzivního používání fungicidů, například strobilurinů v souvislosti s původcem bráničnatky pšeničné *Z. tritici*.

Monitorování aktuálního stavu a dynamiky rezistence v čase je považováno za jednu z klíčových strategií pro management rezistence v praxi. Bez znalosti aktuálního stavu a dynamiky na daném území není možné aplikovat opatření k odložení vážných důsledků vzniku rezistentních jedinců v populaci patogenů. Cílem této studie bylo provést screening významných patogenů obilovin, jako jsou *Microdochium* spp., *Oculimacula* spp., *Zymoseptoria tritici* a *Ramularia collo-cygni* v České republice, a to s ohledem na jejich reakci na vybrané často používané fungicidy. Testovány byly následující fungicidní látky: inhibitory demethylace (DMI), jako jsou prothioconazole a mefentrifluconazole; inhibitory dýchacího řetězce skupiny Qol (strobiluriny), azoxystrobin; inhibitory sukcinátdehydrogenázy (SDHI), fluxapyroxad; a jeden novější inhibitor dýchacího řetězce, fenpicoxamid ze skupiny (Qil).

Materiál a metody

Mezi lety 2019 a 2023 byl v různých zemědělských oblastech České republiky proveden rozsáhlý průzkum, při kterém bylo shromážděno 984 izolátů patřících k druhům *Microdochium* spp., *Oculimacula* spp., *Z. tritici* a *R. collo-cygni*. Tyto izoláty byly pečlivě sbírány z rostlinného materiálu s příznaky onemocnění, konkrétně z bazálních částí stébel a listů pšenice a ječmene.

Pro testování rezistence na fungicidy byly z vypěstovaných kultur vykrojeny myceliální disky o průměru 1.5 mm a umístěny na agarové medium, které bylo doplněno o streptomycin a testovaný fungicid. Účinnost fungicidů byla určena prostřednictvím *in vitro* testů na Petriho miskách obsahujících agar s fungicidy aplikovanými v různých koncentracích: 0.0, 0.01, 0.1, 1.0 a 10.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Inhibice růstu houbových kolonií byla kvantifikována měřením průměru kolonií a střední efektivní dávka (ED50) byla vypočítána pomocí probitové analýzy. V této studii byla testována řada fungicidních látek: inhibitory demethylace (DMI), jako jsou prothioconazol a mefentrifluconazol; látky skupiny Qol (strobiluriny), azoxystrobin; inhibitory sukcinátdehydrogenázy (SDHI), fluxapyroxad; a jeden novější inhibitor dýchacího řetězce, fenpicoxamid.

Výsledky a diskuse

V této studii poskytujeme hodnocení trendů výskytu jedinců s nižší citlivostí na fungicidy (ED50 > 0.5 $\mu\text{g/ml}$) v populacích

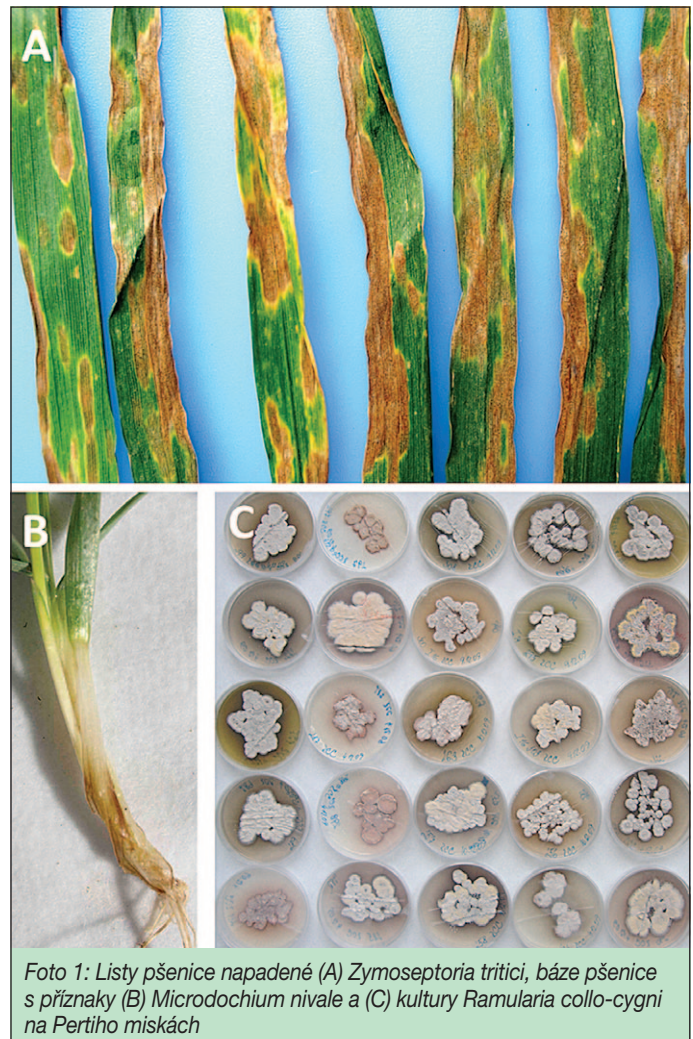
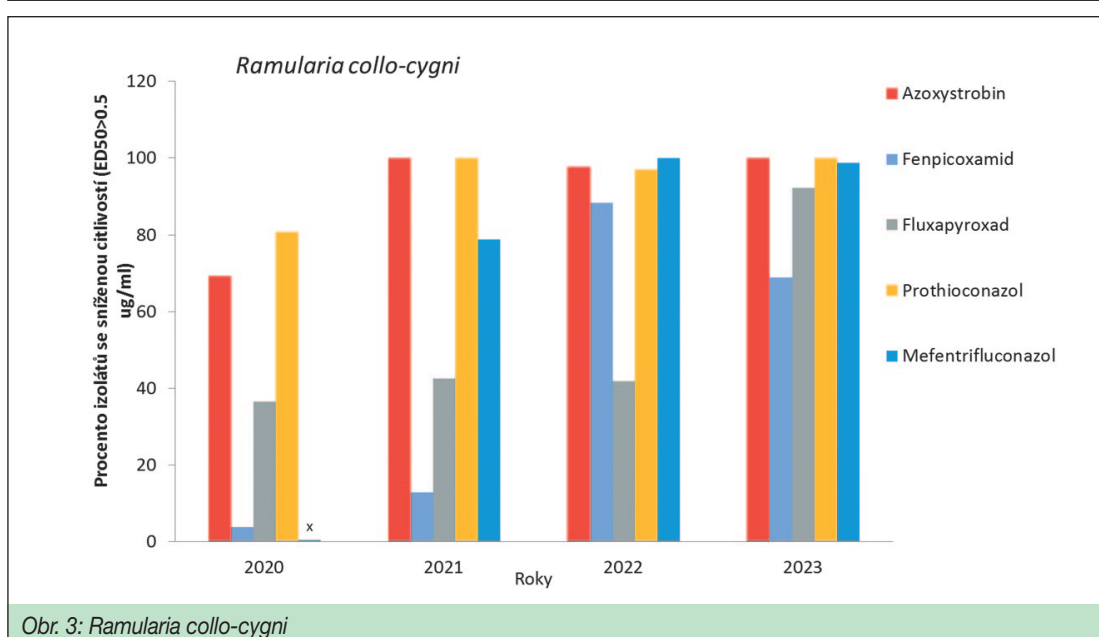
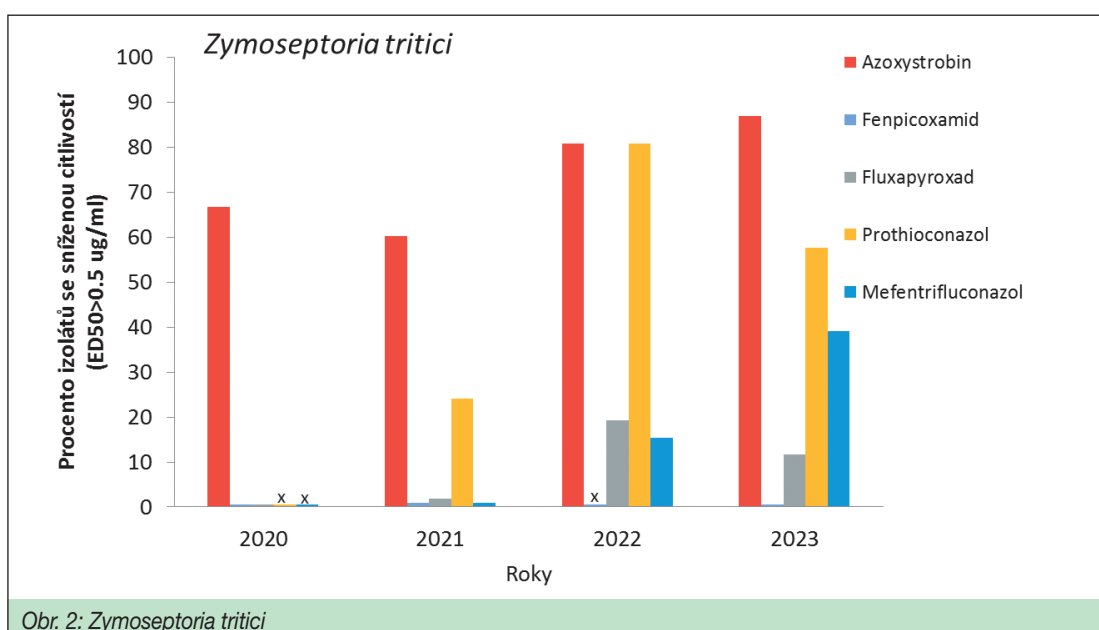
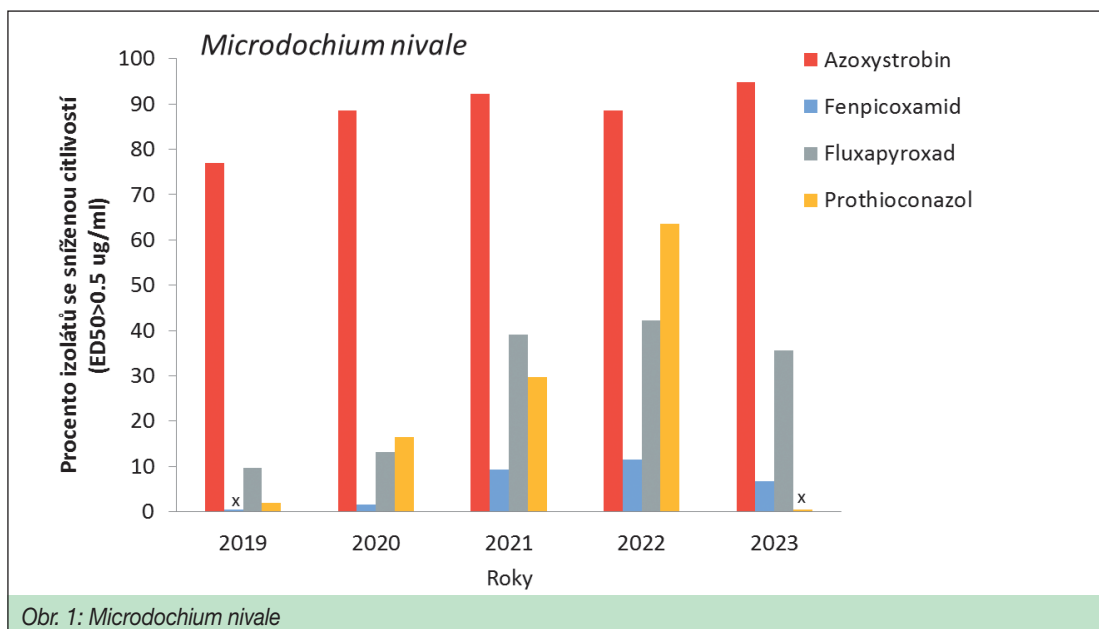


Foto 1: Listy pšenice napadené (A) *Zymoseptoria tritici*, báze pšenice s příznaky (B) *Microdochium nivale* a (C) kultury *Ramularia collo-cygni* na Petriho miskách

během posledních několika let, s důrazem na podrobnou analýzu za uplynulý rok. Z obrázků 1 až 3 je patrné, že nejvyšší podíl jedinců s nižší citlivostí byl konzistentně identifikován u fungicidu azoxystrobinu. Tento trend je zaznamenán u druhů jako *Microdochium nivale*, *Z. tritici* a *R. collo-cygni*. Další významný nárůst počtu jedinců s nižší citlivostí byl zjištěn u prothioconazolu a v menší míře také u fluxapyroxadu a mefentrifluconazolu. Při srovnání mezi houbovými patogeny vykazuje *R. collo-cygni* největší podíl jedinců s nižší citlivostí, což je v časové řadě zřetelně ilustrováno na obrázku 3.

V roce 2023 jsme pak zaznamenali četné výskyty snížené citlivosti k fungicidům především u populací *M. nivale*, *Z. tritici* a *R. collo-cygni* (obr. 4). V uvedených případech se jedná o razantní snížení citlivosti populací ke strobilurinové látce azoxystrobin. U *Microdochium nivale* se jednalo o 94,9 % izolátů s vysokou úrovní rezistence k azoxystrobinu u *Z. tritici* bylo rezistentních více než 86 % a u *R. collo-cygni* 100 %. Co se týče dalších látek, pak poměrně vysoké procento izolátů *Z. tritici* (cca 58 %) vykazovalo sníženou citlivost k prothioconazolu. K této látce pak bylo méně citlivých plných 100 % izolátů *R. collo-cygni*. Část populace (35,6 %) *M. nivale*, *Z. tritici* (11,6 %) a *R. collo-cygni* (92,2 %) vykazovala mírné snížení citlivosti k fluxapyroxadu, ale jen s nepatrným překročením hodnoty 0.5 $\mu\text{g.ml}^{-1}$. Poslední látkou, u které jsme zaznamenali známky mírně snížené citlivosti, byl fenpicoxamid. V tomto případě více než 6,7 % vzorku z měřené populace *Microdochium* spp. bylo v roce 2023 méně citlivé. U *R. collo-cygni* vykazovalo sníženou citlivost k této látce 68,8 % izolátů.



Ostatní sledované fungicidní látky se vyznačovaly v testu dobrou účinností na české populace vybraných patogenů. To se týká např. druhu *Z. tritici*, u něž všechny české izoláty z roku 2023 vykazovaly vysokou úroveň citlivosti k fenpicoxamidu nebo druhu *Oculimacula* sp. s vysokou mírou citlivosti k fluxapyroxadu či prothioconazolu a *M. nivale* k prothioconazolu.

Když se podíváme na data, která pravidelně zveřejňuje FRAC na svých webových stránkách (<https://www.frac.info/docs/default-source/working-groups/>) pak podle údajů z monitoringu předních světových společností vyrábějících pesticidy v roce 2022 je rezistence houbových organismů, konkrétně *Mycosphaerella graminicola*, vůči fungicidům QoI v pšenici široce pozorována v severovýchodních zemích, zejména v Dánsku a Švédsku, a také v Německu, Francii, Nizozemsku, Spojeném království a Irsku. Tyto země během čtyřletého monitorovacího období 2019–2022 trvale hlásí vysoké úrovně rezistence. Česká republika, Slovensko a Polsko hlásily v letech 2021 a 2022 střední až vysokou úroveň rezistence, což představuje zlepšení oproti roku 2020, kdy byla úroveň rezistence klasifikována jako střední až vysoká. Itálie rovněž hlásí střední až vysokou úroveň rezistence, přičemž došlo ke zvýšení oproti předchozím hodnocením. V roce 2022 země jako Španělsko, Rumunsko a Ukrajina hlásily střední úroveň rezistence, ačkoli tyto úrovně vykazovaly v rámci těchto zemí vysokou variabilitu. V roce 2020 Rusko, Maďarsko a Bulharsko hlásily nízkou až střední úroveň rezistence vůči fungicidům QoI, přičemž Bulharsko si tuto nižší hranici rezistence udržuje již několik let.

Sledování rezistence *R. collo-cygni* k fungicidům v ječmeni, konkrétně prostřednictvím molekulární kvantifikace mutace G143A, které vedly přední výrobci a distributoři pesticidů, odhalilo, že v roce 2022 vykazovaly populace tohoto houbového patogena ve Francii, Irsku, Německu, Nizozemsku, Polsku, Španělsku a Švédsku vysokou frekvenci rezistence k fungicidům QoI. Omezený monitoring prováděný v letech 2019 až 2022 v Chorvatsku, Itálii, Rakousku a Švýcarsku naznačil mírný výskyt rezistence. Významný výskyt rezistence byl v roce 2021 zaznamenán v České republice, Francii, Irsku, Německu, Nizozemsku, Španělsku a Spojeném království, přičemž Chorvatsko, Itálie a Rakousko hlásily střední výskyt rezistence vůči fungicidům QoI. V roce 2020 zahrnovalo monitorování rezistence u *R. collo-cygni* jak biologický test, tak molekulární kvantifikaci mutace G143A. Vysoká frekvence rezistence byla zjištěna v České republice, Dánsku, Irsku, Lotyšsku, Maďarsku, na Slovensku, ve Švédsku a ve Spojeném království, střední až vysoká frekvence ve Francii a Německu, střední frekvence ve Švýcarsku a nízká frekvence ve Španělsku. Sledování rezistence na mutaci genu G143A ukázalo vysokou četnost výskytu v Dánsku, Francii, Irsku, Maďarsku, Španělsku a Spojeném království; střední četnost výskytu v Itálii, Německu a Rumunsku; a nízký výskyt v Rakousku a Švýcarsku. Tato zjištění ze stránek FRAC zde uvádíme, jelikož jsou v souladu s našimi zjištěními, které jsme získali sledováním stavu na našem území.

V kontextu vysokého objemu fungicidů používaných v zemědělství narůstá i riziko vývoje rezistence u škodlivých organismů. Rezistence na fungicidy se vyznačuje jako dědičná snížená citlivost organismu na určité antimykotické látky. Tento jev pochopitelně představuje nežádoucí vývoj, kterému je třeba se vyhnout. Základní strategie pro prevenci vzniku rezistence na fungicidy zahrnuje několik klíčových pravidel: vyvarovat se opakovaného používání stejného přípravku, omezit počet ošetření během vegetační sezóny, striktně dodržovat doporučené dávkování a způsob aplikace podle výrobce. Důležitým prvkem

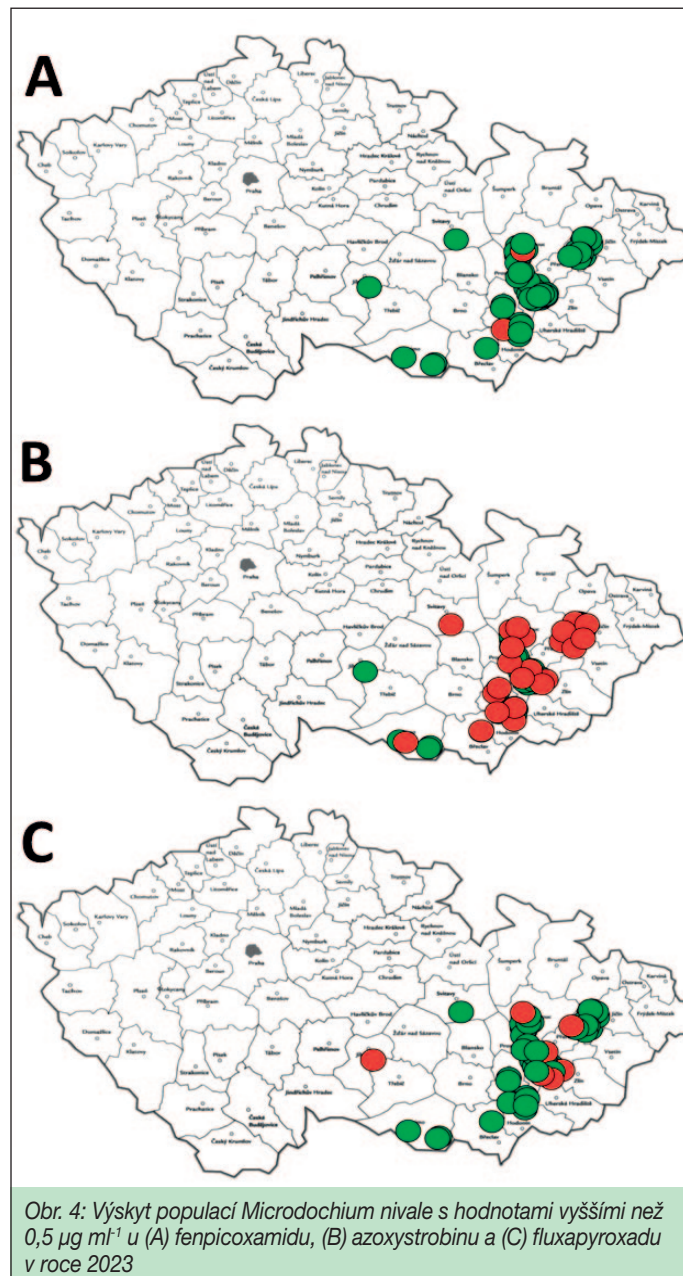
je také implementace dodržování zásad integrované ochrany rostlin.

/Recenzováno/

Poděkování:

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1123.

Přehled použité literatury je k dispozici u autorů studie.



Obr. 4: Výskyt populací *Microdochium nivale* s hodnotami vyššími než $0,5 \mu\text{g ml}^{-1}$ u (A) fenpicoxamidu, (B) azoxystrobinu a (C) fluxapyroxadu v roce 2023