

DIAGNOSTIKA HLÍZENKY OBECNÉ (*Sclerotinia sclerotiorum*) U ŘEPKY OZIMÉ POMOCÍ ODBĚRU KORUNNÍCH PLÁTKŮ (Petal test)

Diagnostics of White Mould (Sclerotinia sclerotiorum) in Winter Oilseed Rape by Sampling Petals (Petal Test)

David BEČKA¹, Jiří ŠIMKA¹, Peter BOKOR², Evžen PROKINOVÁ¹, Lucie BEČKOVÁ¹

¹Česká zemědělská univerzita v Praze, ²Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Abstract: The aim of the research was to improve winter rapeseed protection against white mould (*Sclerotinia sclerotiorum*) with use of spring rapeseed sown in autumn or of early flowering winter rapeseed cultivars. Experiments were established during 2007/2008 - 2011/2012 at eight semi-practice localities and at one locality with small plot experiments. In 2011/12 were newly established trials at nine locations in southwestern Slovak Republic. We collected fallen corona plates from the beginning of spring rapeseed flowering under aseptic conditions and we put them into Petri dishes with agar. Obtained results confirmed, that spring rapeseed and early flowering cultivar of winter rapeseed Californium can be used for improvement of protection against white mould (*Sclerotinia sclerotiorum*) or for obtaining of information about intensity of infectious press in stand.

Keywords: White mould, *Sclerotinia sclerotiorum*, petal test, spring rapeseed, winter rapeseed, diagnostics

Souhrn: Cílem výzkumu je zlepšit ochranu ozimé řepky proti hlízence (*Sclerotinia sclerotiorum*) s využitím jarní řepky seté na podzim nebo časně kvetoucích odrůd ozimé řepky. Pokusy jsme založili v letech 2007/08 – 2011/12 na osmi poloprovozních lokalitách a jedné lokalitě s maloparcelkovými pokusy. V roce 2011/12 byly nově založeny také pokusy na devíti místech v jihozápadním Slovensku. Odebírali jsme opadlé korunní plátky od začátku kvetení jarní řepky za aseptických podmínek a vkládali je do Petriho misek s agarem. Získané výsledky potvrdily, že jarní řepku a časně kvetoucí odrůdu ozimé řepky Californium můžeme využít pro zlepšení ochrany proti hlízence (*Sclerotinia sclerotiorum*), respektive pro získání orientační informace o síle infekčního tlaku v porostu.

Klíčová slova: hlízenka obecná, *Sclerotinia sclerotiorum*, petal test, jarní řepka, ozimá řepka, diagnostika

Úvod

Řepka ozimá je potenciální hostitelskou rostlinou pro více jak 71 druhů mikroorganismů (viry, bakterie a houby). Jen asi deset z nich je pro řepku významných a nebezpečných. S rostoucí koncentrací ploch řepky narostl význam některých houbových chorob. Vedle intenzivního šlechtění, především proti fomové hnilobě (*Leptosphaeria maculans*, anamorfa *Phoma lingam*), jsme od roku 1993 začali plošně používat fungicidy. Vedle četných výskytů fomy jsou dalšími nebezpečnými chorobami pro řepku: hlízenka obecná (*Sclerotinia sclerotiorum*), verticiliové vadnutí (*Verticillium dahliae*), plíseň šedá (*Botrytis cinerea*), plíseň zelná (*Peronospora brassicae*) a černě (*Alternaria* sp.). Zatím menší škody způsobuje cylindrosporióza řepky (*Cylindrosporium concentricum*) a padlí (*Erysiphe* sp). Potencionální hrozbou pro některé oblasti je nádorovitost kořenů košťálovin (*Plasmiodiophora brassicae*), na kterou se teď soustřeďuje pozornost šlechtitelů.

Nejrozšířenější chorobou je fomová hniloba (*Leptosphaeria maculans*, anamorfa *Phoma lingam*). Významnější škody tato choroba může způsobovat, pokud pronikne do kořenového krčku. To se stalo po zimě 2011/12, kdy mrazem poškozená pletiva byla vstupní branou pro fomu. Rostliny pak uhnívaly a vy-

Metodika

Na České zemědělské univerzitě v Praze již pět let v rámci grantů NAZV QH 81147, CIGA a FRVŠ sledujeme možnosti využití jarní řepky seté na podzim a časně kvetoucích odrůd řepky ozimé pro diagnostiku výskytu hlízenky. Jarní řepka setá na podzim z 60-80 % přezimuje. Pokud není poškozená a nezmládí,

lamovaly se. Registrované fungicidy do řepky vykazují prokazatelný účinek na fomu, hlízenku, plíseň šedou a černě. Vzhledem k velmi dobré odolnosti současných odrůd řepky k fomě a neúčinku většiny fungicidů na verticilium je v popředí zájmu a ochrany hlízenka. Ta v roce 2008, při kombinaci vysokých porostů a větších srážek, způsobila předčasné dozrávání a pokles výnosu řepky. Loňský (2010/11) a letošní (2011/12) rok můžeme charakterizovat z pohledu výskytu houbových chorob jako málo rizikový. Týká se to především hlízenky obecné, zatímco výskyt verticiliového vadnutí byly běžné jako v předchozích letech.

Hlízenka obecná poškozují řepku prakticky ve všech oblastech světa, kde se tato plodina pěstuje. Výzkum se proto mimo jiné zaměřuje i na vypracování spolehlivých prognostických programů. Některé vycházejí z vyhodnocení podmínek prostředí (vlhkost, teplota, výskyt choroby v minulých letech atd.). Jiné pracují se sumou efektivních teplot a srážek v období konce butonizace až počátek kvetení – systém Sclero-Pro (KOCH et al., 2007). K předpovědním metodám v zahraničí často používaným patří i tzv. petal test, tj. zjištění přítomnosti patogena v porostu jeho izolací z korunních plátků (TURKINGTON et al., 1991).

vykvétá o 3-7 dní před nejraněji kvetoucími ozimými odrůdami (Californium, Pulsar, Rohan, Vectra).

Pokusy jsme zakládali v letech 2007/08 – 2011/12 na osmi poloprovozních lokalitách (velikost parcel přibližně 0,2–0,5 ha): Dub nad Moravou (okres Olomouc, 2007/08), Hrotovice (okres Třebíč), Humburky (okres Hradec Králové), Chrástany (okres Ra-

kovník), Kelč (okres Vsetín), Nové Město na Moravě (okres Žďár nad Sázavou), Petrovice (okres Benešov), Rostěnice (okres Vyškov, 2008/09 - 2011/12) a Vstíř (okres Plzeň-jih). V roce 2007/08 se nám podařilo získat kompletní výsledky ze čtyř, v roce 2008/09 ze šesti, v roce 2009/10 z pěti, v roce 2010/11 ze sedmi a v roce 2011/12 z osmi lokalit. Současně zakládáme maloparcelkové pokusy (velikost parcel 11,9 m² ve čtyřech opakováních) na Výzkumné stanici FAPPZ v Červeném Újezdě (okres Praha-západ).

V roce 2011/12 jsme navíc založili pokusy také na jihozápadním Slovensku (Bešeňov, Dedina Mládeže, Dolný Ohaj, Dvory nad Žitavou, Hul, Komoča, Neded, Trnovec nad Váhom, Žihárec) ve spolupráci se Slovenskou poľnohospodárskou univerzitou v Nitre.

Naším cílem bylo diagnostikovat hlízenku pomocí opadlých (infikovaných) korunních plátek u jarní řepky a časné kvetoucí ozimé řepky (Californium či Vectra) a stanovit prognózu potenciálního infekčního tlaku hlízenky v daném roce. Výsledky z infikovaných korunních plátek jsme hodnotili regresní a korelační analýzou v programu Statgraphic plus verze 4 ve vazbě s napadením stonků hlízenkou v porostu asi 7-10 dní před sklizní.

Petal test – stanovení infekce hlízenky na opadlých korunních plátcích. Metodika pokusů je založena na izolaci patogenní houby z opadlých korunních plátek na živné půdě (Potato Dextrose Agar) v Petriho miskách. Agar se rozlévá do sterilních Petri-

ho misek po autoklávování za teploty cca 50-70°C ve sterilním prostředí. Pro diagnostiku hlízenky využíváme jarní řepku, kterou vyséváme na podzim (2007/08 - Haydn, 2008/09 - Canyon, 2009/10 až 2011/12 - Lužnice) a ozimou časné kvetoucí řepku Californium. Odebíráme opadlé korunní plátky přilepené na listech, které sterilní pinzetou (ošetřenou desinfekčním přípravkem) přeneseme v počtu pěti kusů do Petriho mísky na umělou živnou půdu (agar). Z každé varianty založíme deset misek (tedy celkem 50 plátek), tj. jedno opakování tvoří pět korunních plátek. Opadlé korunní plátky sbíráme přilepené na listech u přezimované jarní řepky (v případě jejího vymrznutí u časné kvetoucí odrůdy ozimé řepky Vectra) a u ozimé časné kvetoucí odrůdy Californium.

Kultivace probíhá týden ve tmě při teplotě 20°C. Po týdnu lze zjistit, kolik plátek bylo infikovaných spory hlízenky a tedy předpovědět její potenciální infekční tlak. Plátky jsme odebírali na poloprovozech třikrát (první termín začátek opadu plátek u jarní řepky a pak asi v týdenních odstupech), na maloparcelkách šestkrát (první termín začátek opadu plátek u jarní řepky a pak přibližně v týdenních odstupech až do úplného odkvětu). Misky s odebranými korunními plátky byly vizuálně analyzovány na Katedře ochrany rostlin na ČZU v Praze (ČR) nebo Katedře ochrany rostlin na SPU v Nitre (SR). Hlízenka tvoří na miskách bílé mycelium a později i černá sklerocia.

Výsledky pozorování jsou rozděleny do třech částí poloprovozy a maloparcelky ČR, poloprovozy SR.

Výsledky a diskuse

1) Diagnostika hlízenky obecné – poloprovozy ČR

Největší výskyt hlízenky jsme zaznamenali v roce 2007/08, kdy byl nástup infekce hlízenky dřívější, velmi intenzivní a dlouho trvající. Porosty v tomto roce byly vysoké a hlízence svědčilo i vlhčí počasí od konce dubna do května. V roce 2008/09 v důsledku sucha porosty narostly asi o 25–30 cm nižší a suché počasí neumožnilo tak razantní rozšíření hlízenky. Obdobně vyšel i vlhký rok 2009/10, kdy se hlízenka začala v porostech šířit později. I přes vydatné srážky v květnu (bylo ale chladněji) však nedošlo k tak intenzivnímu rozvoji hlízenky jako v roce 2007/08. Poslední dva roky 2010/11 a 2011/12 se vyznačovaly malým výskytem hlízenky. Důvodem byl suchý duben a květen, nízké řepky a celkově řídké porosty. Podle infikovaných korunních plátek na jaře roku 2011/12 (tab. 1), jsme předpovídali nižší infekční tlak hlízenky. To se nám následně potvrdilo i zdravějšími porosty před sklizní (tab. 2).

Nejvyšší počet infikovaných korunních plátek byl (kromě roků 2007/08 a 2008/09) v době 2. termínu,

který odpovídá začátku plného květu ozimé řepky. To je i doba pro nejefektivnější aplikaci fungicidů, pokud ale nepoužijeme strobiluriny (Acanto, Amistar, Pictor). U strobilurinů je výhodnější jejich časnější aplikace, tj. těsně před květem.

Lokalitami, kde byl nejvyšší tlak hlízenky (dle procenta infikovaných plátek) byly, Nové Město na Moravě (11,8 %), Petrovice (9,7 %), Humburky (9,3 %) a Kelč (8,7 %) (tab.2). Celkově bylo infikováno v průměru 6 % plátek, tedy druhá nejnižší infekce za pět let pozorování (po roce 2010/11 – 5 %). I když naše doporučení bylo zvolit levnější variantu fungicidního ošetření či ošetření zcela vynechat, řada podniků vsadila na jistotu – aplikaci strobilurinů (Amistar, Amistar Xtra či Pictor). Výsledné procento infikovaných stonků hlízenkou pak bylo minimální (tab. 2). Nejvíce napadenou lokalitou se staly tradičně Petrovice (1,7 % infikovaných stonků), naopak bez výskytu hlízenky byly Hrotovice, Nové Město na Moravě a Rostěnice (0 % infikovaných stonků). Důvodem menšího napadení byl také sušší květen, kdy spadlo asi 65 % normálu, a nedošlo k tak velkému šíření chorob.

Tabulka 1: Infikované korunní plátky (v %) ¹⁾, poloprovozy 2007/08 - 2011/12.

termín odběru	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	průměr
1. termín	22	4	9	1	4	8
2. termín	17	10	13	9	11	12
3. termín	12	13	9	5	2	8
průměr	17	9	10	5	6	9

Pozn. 1. termín – opad korunních plátků u jarní řepky, další termíny asi v týdenním odstupu.

¹⁾ výsledky jsou průměrem za jarní řepku (či odrůdu Vectra) a Californium.

Tabulka 2: Hodnocení hlízenkou infikovaných korunních plátků a stonků před sklizní v %, poloprovozy 2011/12.

Ukazatel/lokalita	Hrotovice	Humburky	Chrástáky	Kelč	Nové Město na Moravě	Petrovice	Rostěnice	Vstíř
Infikované plátky hlízenkou (%) ¹⁾	1,7	9,3	5,0	8,7	11,8	9,7	0,7	0,7
Použitý fungicid	Pictor	Amistar	Pictor	Alert+Amistar Xtra	Amistar Xtra	Pictor	Pictor	Amistar Xtra
Infikované stonky hlízenkou (%)	0,0	0,5	0,6	0,1	0,0	1,7	0,0	0,4

Pozn. ¹⁾ výsledky jsou průměrem za jarní řepku (či odrůdu Vectra) a Californium a všechny tři termíny odběru.

2) Diagnostika hlízenky obecné – maloparcelky v Červeném Újezdě

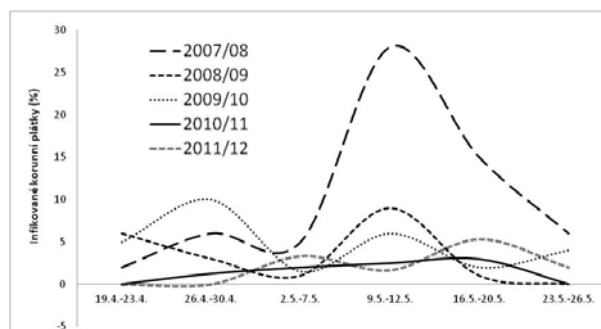
V Červeném Újezdě byl infekční tlak hlízenky poslední dva roky (2010/11 a 2011/12) velmi nízký. V obou letech se na tom podílely především nižší řepky a suchý duben (44 % normálu v roce 2010/11) nebo suchý květen (61 % normálu v roce 2011/12). V obou těchto letech bylo procento infikovaných plátků nejnižší (graf 1). Nepozorovali jsme podstatné rozdíly v napadení korunních plátků jarní řepky a odrůdy Californium.

Vzhledem k více uskutečněným odběrům můžeme velmi dobře určit, kdy se hlízenka začala v porostu přesně šířit (graf 1). V roce 2007/08 byl největší infekční tlak kolem 12. května. V následujících letech můžeme pozorovat šíření hlízenky v několika vlnách: v roce 2008/09 ve dvou vlnách (kolem 21. 4. a 12. 5.) a v roce 2009/10 dokonce ve třech vlnách (kolem 28. 4., 11. 5. a 24. 5.). V roce 2010/11 jsme po celou dobu odběrů pozorovali velmi slabý výskyt hlízenky, který se mírně zvýšil v polovině května (16. 5.). Rok 2011/12 se vyznačoval opět dvěma vlnami infekčního tlaku (kolem 4. 5. a 17. 5. 2012), které však byly, pravděpodobně vlivem sucha, zpožděny o cca 5-7 dní oproti vlnám z let minulých.

V roce 2007/08 a 2008/09 vychází hlavní šíření hlízenky na období kolem 12. května. Výsledky korepondují i s počasím ve sledovaných měsících. V roce 2008 spadlo v druhé dekádě května 55,1 mm, tedy o 2 % více srážek než je dlouhodobý normál za celý měsíc (54 mm) a v druhé dekádě května roku 2009 spadlo 27,4 mm, tj. více než 50 % měsíčního normálu. V roce 2009/10 sice v 1. dekádě května napršelo 42,5 mm, ale bylo chladněji a hlízenka se tolik nešířila. Šířit se pak začala (na přelomu května a června) až po srážkách ve třetí dekádě května (26,4 mm). V roce 2010/11 byl

konec dubna a počátek května suchý. Pršet začalo až v druhé dekádě května (20 mm), ale to už se hlízenka šířila minimálně. Rok 2011/12 se vyznačoval, suším koncem dubna (poslední dekáda jen 7,5 mm), sušší a chladnější 2. dekádou května (spadlo 8,3 mm a prům. teplota činila 11,1°C). Infekční tlak hlízenky byl v tomto roce nízký.

Graf 1: Šíření hlízenky v porostu řepky ozimé podle infikovaných korunních plátků (v %) ¹⁾, maloparcelkové pokusy v Červeném Újezdě v letech 2007/08 - 2011/12.



Pozn.: 1. termín – opad korunních plátků u jarní řepky, další termíny asi v týdenním odstupu.

¹⁾ výsledky jsou průměrem za jarní řepku a Californium

Statistické vyhodnocení. Pokud zhodnotíme regresní a korelační analýzou infikované korunní plátky (v %) a infikované stonky hlízenkou před sklizní (v %) u odrůdy Californium, vychází nám středně silná závislost ($r = 0,74$). Výskyt hlízenky v porostu lze podle koeficientu determinace (r^2) předpovědět s 54 % pravděpodobností podle počtu infikovaných korunních plátků na živné půdě (graf 2). Výsledky uvádíme pouze u California, protože jarní řepka je velmi často poškozena komplexem houbových chorob a výskyt hlízenky jsou na stoncích špatně detekovatelné.

Graf 2: Regresní a korelační analýza mezi infikovanými korunními plátky na miskách (%) a výskytem hlízenky v porostu (%), poloprovozy i maloparcelky za roky 2007/08 - 2011/12.

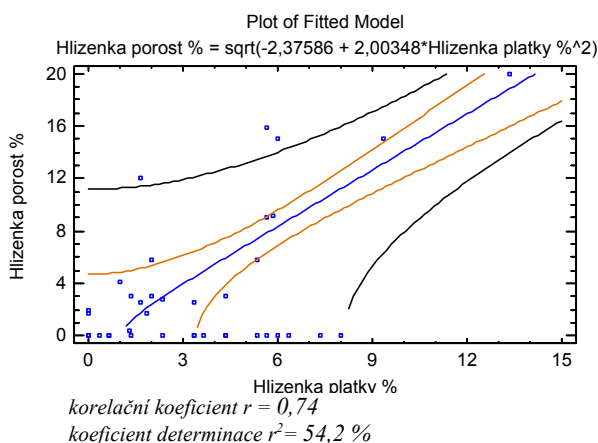
Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	161723,	1	161723,	42,68	0,0000
Residual	136411,	36	3789,18		
Total (Corr.)	298134,	37			

Double-squared: $Y = \sqrt{a + b \cdot X^2}$

Correlation Coefficient = 0,736513

R-squared = 54,2452 percent



3) Diagnostika hlízenky obecné – poloprovozy SR

V roce 2011/12 jsme také poprvé odebírali opadlé korunní plátky na jihozápadním Slovensku. Tento rok se vyznačoval na Slovensku velkými zaorávkami (až 40 %) způsobenými nevzejitím porostů na podzim

Závěr

V roce 2011/12 jsme diagnostikovali na opadlých korunních plátcích jedny z nejnižších infekcí hlízenky obecné. To se nám následně i potvrdilo při bonitaci hlízenky v porostu před sklizní. Z pětiletých výsledků jsme zjistili středně silnou závislost ($r = 0,74$) mezi procentem infikovaných korunních plátků na živné půdě (petal test) a procentickým výskytem hlízenky v porostu. Výsledky také potvrdily, že jarní řepku, která

a velkými teplotními výkyvy v průběhu zimy (vyzimování). Řepky byly velmi nízké, řídké a chorob velmi málo. Výsledky jsou uvedeny v tabulkách č. 3 a 4. V průměru bylo infikováno jen asi 0,25 % korunních plátků. Při hodnocení před sklizní 28. 6. 2012 ani na jedné z lokalit nebyl zjištěn výskyt hlízenky v porostu.

Tabulka 3: Infikované korunní plátky (v %), poloprovoz (Hul) a provozní plocha (Dolný Ohaj), SR 2011/12

Lokalita (odrůda)	17.4. 2012	25.4. 2012	3.5. 2012	11.5. 2012
Hul (jarní - Heros)	1	1	-	-
Dolný Ohaj (Bonanza)	0	2	0	0
Hul (Rohan)	-	-	0	0

Pozn.: - odběr nebyl proveden.

Tabulka 4: Infikované korunní plátky (v %), provozní plochy, SR 2011/12

Lokalita (odrůda)	27.4.2012	3.5.2012
Žihárec (?)	0	0
Komoča (?)	0	0
Neded (NK Morse)	0	0
Dvory nad Žitavou (?)	0	0
Bešeňov (Ladoga)	1	0
Dedina Mládeže (Goya)	-	0
Trnovec nad Váhom (Robust)	-	0

Pozn.: - odběr nebyl proveden.

přezimuje z 60-80 %, nebo časně kvetoucí ozimou řepku (Californium), lze použít pro získání orientační informace o síle infekčního tlaku hlízenky v porostu. Tato informace může agronomům pomoci se rozhodnout, zda porosty fungicidně ošetřit či ne, popř. jak účinný zvolit fungicid. První výsledky jsme také získali ze Slovenska, kde byl ale v roce 2011/12 velmi slabý infekční tlak hlízenky.

Použitá literatura

Koch, S., Dunker, S., Kleinhenz, B., Röhrig, M., Tiedemann, A. (2007): A Crop Loss-Related Forecasting Model for Sclerotinia Stem Rot in Winter Oilseed Rape. *Phytopathology*. Vol. 97, No. 9: 1186-1194.

Turkington, T. K., Morall, R. A. A., Rude, S. V. (1991): Use of petal infestation to forecast sclerotinia stem rot of vanilla: the impact of drought and weather-related inoculum fluctuations. *Can. J. Plant Pathol.*, 13: 347-355

Kontaktní adresa

Ing. David Bečka, Ph.D., Katedra rostlinné výroby, ČZU v Praze, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6-Suchdol, tel. 22438 2531, e-mail: becka@af.czu.cz

Řešeno za finanční podpory grantů NAZV QH 81147 „Střet plodin v globální soutěži a řešení rizik pro ozimou řepku“, CIGA 3115 „Systém ochrany proti Sclerotinia sclerotiorum v řepce ozimé (Brassica napus L.)“ a FRVŠ 1160 „Využití metody kultivace korunních plátků pro výuku, výskytu diagnostiky hlízenky obecné (Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) De Bary) u řepky ozimé“.