

POLOPROVOZNÍ POKUSY S ODRŮDAMI OZIMÉ ŘEPKY REZISTENTNÍMI K *PLASMODIOPHORA BRASSICAE* (WOR.) – PŮVODCI NÁDOROVITOSTI KOŘENŮ BRUKVOVITÝCH

Field trials with oil seed rape cultivars resistant to Plasmodiophora brassicae (Wor.) - pathogen causing clubroot

Veronika ŘIČAŘOVÁ, Jan KAZDA

Česká zemědělská univerzita v Praze

Summary: Experiments with clubroot resistant cultivars of winter rape were carried out in the infested fields in Hrádek nad Nisou. In total eight clubroot resistant cultivars in two years were tested. The plots were regularly monitored and disease severity and root damage was assessed, also the number of plant per m² and root neck thickness was measured. Yields were measured at the end of the cropping season.

Key words: oil seed rape, clubroot, *Plasmodiophora brassicae*, resistant cultivars, field trials

Souhrn: Poloprovozní pokusy s odrůdami ozimé řepky rezistentními k nádorovitosti kořenů brukvovitých byly prováděny na zamořených pozemcích v Hrádku nad Nisou. Celkem bylo testováno 8 odrůd ve dvou sezónách. Parcely byly pravidelně kontrolovány a bylo stanoveno poškození kořenů, počet rostlin na m² i tloušťka kořenových krčků. Pokus byl sklizen běžnou sklízecí technikou a byl změřen výnos jednotlivých odrůd.

Klíčová slova: řepka olejná, nádorovitost kořenů brukvovitých, *Plasmodiophora brassicae*, rezistentní odrůdy, polní pokusy

Úvod a literární přehled

Půdní patogen *Plasmodiophora brassicae* (superkupina *Rhizaria*, kmen *Cercozoa*, třída *Plasmodiophorida*, řád *Phytophycea*) způsobuje chorobu nádorovitost kořenů brukvovitých rostlin, mezi které patří i řepka olejka (Hwang et al., 2012). *P. brassicae* se vyskytuje ve více než 60 zemích světa včetně České republiky a působí 10 – 15 % škody v celosvětové produkci řepky olejky (Dixon, 2009a). Potenciálními hostiteli *P. brassicae* mohou být všechny druhy z čeledi brukvovitých, včetně brukvovitých plevelů (Dixon, 2009a).

Patogen působí nádory a deformace na kořenech napadených rostlin, způsobuje nadměrné zvětšení buněk hostitele, které vede k tvorbě nádoru (Hwang et al., 2012). Poškození začíná na postranních kořenech, silně napadené rostliny pak mají zcela deformovaný hlavní kořen. Nastává vadnutí, žloutnutí, někdy až antokyanové zbarvení listů, postižené rostliny pak většinou nepřežijí zimu. Deformace kořene způsobují destrukci vodivých pletiv, napadené rostliny mají porušený transport vody a živin (Dixon, 2009b). Po uhynutí rostliny se nádory rozpadají a do půdy se uvolňují trvalé spory.

Životní cyklus *P. brassicae* je rozdělen na primární a sekundární fázi (Ayers, 1944; Ingram et Tommerup, 1972). Vitalita spor je v půdě zachována po dlouhou dobu (15-20 let) (Wallenhammar, 1996). Trvalé spory v půdě klíčí a dochází k uvolnění pohyblivých zoospor, které vyhledávají kořenové vlásky, kde dochází k primární infekci (Ayers, 1944). Primární fáze probíhá jak u náchylných, tak u rezistentních odrůd (Hwang et al., 2012). Vzniká mnohojaderný útvar, v němž se vyvíjejí spory obsahující sekundární zoospory, které se opět uvolňují do půdy. V půdě dochází ke splývání zoospor a nastává sekundární fáze infekce. Sekundární zoospory pronikají do hlavního kořene hostitele. Opět vzniká mnohojaderný útvar, který vyvolává abnormální zmnožení a zvětšení buněk a způsobuje nádorovitost kořenů. Následně dochází

k tvorbě tlustostěnných trvalých spor, které vyplňují buňky zduřelých pletiv (Ayers, 1944). U rezistentních odrůd sekundární fáze neprobíhá a nedochází tedy ke vzniku nádorů (Hwang et al., 2012).

Dříve byla nádorovitost v českých podmínkách problémem spíše v zelinářství (Rod, 1996), v posledních letech se ovšem choroba šíří i na ozimé řepce. První problémy s nádorovitostí byly hlášeny na podzim 2011. Ačkoliv je patogen pravděpodobně široce rozšířen po celém území republiky, výskyt symptomů závisí na specifických klimatických podmínkách především v době setí (Gossen et al., 2012). Celkové škody na výnosech ozimé řepky nejsou prozatím vysoké. Jedním z důvodů je zřejmě zatím nízké množství inokula a jeho nerovnoměrná distribuce na postižených polích. Jedná se zřejmě o počáteční stádium kolonizace našeho území patogenem *P. brassicae*. Vyskytly se už ovšem i četné případy, kdy byla zničena celá sklizeň řepky. Situace je proto závažná, protože zatím neexistuje jednoduchý, levný a environmentálně šetrný způsob chemické ochrany proti tomuto patogenu.

V současnosti je jediným možným řešením problému používání rezistentních odrůd ozimé řepky, které jsou šlechtěny proti nejvíce převládajícím patotypům patogenu. Populace *P. brassicae* jsou velmi heterogenní a na jednom pozemku se může vyskytovat i více patotypů patogenu (Diederichsen et al., 2009). Pokud se na pozemku vyskytne unikátní patotyp rezistentní odrůda nemusí na tomto pozemku fungovat.

V České republice jsou rezistentní odrůdy dostupné na základě registrace ve Společném evropském katalogu. Zkoušky těchto odrůd na zamořených pozemcích nebyly dosud v ČR prováděny. Hlavním cílem této práce je tedy ověřit rezistenci daných odrůd na zamořeném pozemku.

Materiál a metody

Ve spolupráci Katedry ochrany rostlin ČZU, SPZO a Agro Chomutice (hospodářství Hrádek nad Nisou) proběhly v sezóně 2013/2014 a 2014/2015 poloprovozní pokusy s odrůdami rezistentní ozimé řepky na pozemcích zamořených patogenem *P. brassicae*.

Použité pozemky. Lokality zamořené nádorovitostí se nacházejí v Hrádku nad Nisou, část Donín. Velikost pozemků je 1,5 ha a 3,2 ha.

Použité odrůdy. Do pokusu v sezóně 2013/2014 byly zařazeny odrůdy SY Alister (spol. Syngenta), Andromeda (Limagrain), CWH 241 (Monsanto), Mendel, Mendelson, Mentor (Rapool) a PT235 (Pioneer). V sezóně 2014/2015 byly přidány odrůdy CWH 298 a PT 242, nebyla použita odrůda CWH 241. Jako kontrola infekce byla vždy použita náchylná odrůda řepky.

Tab. 1 – Použité odrůdy - pořadí odrůd odpovídá rozmístění na pozemku.

sezóna	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
2013/2014	SY Alister	Kontrola 1	CWH 241	Mentor	Andromeda	Kontrola 2	Mendelson	Mendel	PT 235	Kontrola 3	x
2014/2015	SY Alister	Mentor	Kontrola 1	Mendelson	Mendel	Kontrola 2	PT 242	PT 235	CWH 298	Andromeda	Kontrola 3

Průběh pokusů. V sezóně 2013/2014 byl pokus vyset 26. 8. 2013 na pozemku o výměře 1,5 ha. V sezóně 2014/2015 byl pokus vyset již 15. 8. 2014 na pozemku o výměře 3,9 ha.

Jako kontrola napadení byla vždy použita stejná náchylná odrůda, která byla vyseta ve třech opakování - na začátku pozemku, uprostřed a na konci, aby bylo potvrzeno celoplošné zamoření pole. Rozložení parcel viz Tab 1.

Na pozemcích byla aplikována běžná podzimní ochrana – preemergentní a postemergentní herbicid a graminicid.

Parcely byly pravidelně kontrolovány v průběhu podzimu jednou za dva týdny, v zimě pak proběhla jedna kontrola. Poslední kontrola proběhla na jaře před začátkem vegetace. Během kontrol byly náhodným výběrem metodou jednoho řádku odebírány kořeny, vždy 30 rostlin na odrůdu a parcelu.

Hodnocení pokusů. U odebraných kořenů byla stanovována míra poškození na základě stupnice poškození (Kuginuki et al. 1999), kde odpovídá 0 – bez napadení, 1 – nádor na postranních kořenech, 2 – nádor na postranním a hlavním kořeni, 3 – velký nádor, hlav-

Výsledky

V sezóně 2013/2014 všechny tři náchylné kontroly vykazují vysoké napadení kořenů (K1 – 78, K2 – 82 a K3 – 83%) (Graf 1), což dokládá rovnoměrné zamoření celého pozemku. Rozdíly v míře napadení rezistentních odrůd se pohybují jen v jednotkách procent a všechny odrůdy vykazují vysokou míru rezistence na daném pozemku. Žádná odrůda nedosáhla 0 % poškození, což se u odrůd rezistentních k *P. brassicae*

ní kořen deformován. Pomocí této stupnice byl vypočítán index napadení (ID - Index of Disease) a to pomocí vzorce:

$$\frac{\sum (nx0 + nx1 + nx2 + nx3)}{Nx3}$$

ID(%) = $\frac{\sum (nx0 + nx1 + nx2 + nx3)}{Nx3} \times 100 \%$, kde n je počet rostlin v jednotlivých třídách stupnice a N je celkový počet rostlin (Strelkov et al., 2006).

Pro zjištění počtu přezimujících rostlin byly na podzim na každé parcele vytyčeny tři plochy o rozloze 1m², kde byl odečten počet rostlin. Další odečet byl prováděn brzy z jara a byla vypočtena průměrná mortalita rostlin na parcele.

V sezóně 2014/2015 bylo pomocí kvantitativní polymerázové řetězové reakce (qPCR), stanoveno množství spor v půdě na jednotlivých parcelách.

V průběhu podzimu byly dvakrát na hodnocených rostlinách změřeny kořenové krčky, výsledky pro jednotlivé odrůdy byly zprůměrovány.

Pokusy byly sklizeny 29. 7. 2014 a 3. 8. 2015. Byla změřena přesná plocha parcel a byl vypočítán průměrný výnos na t/ha.

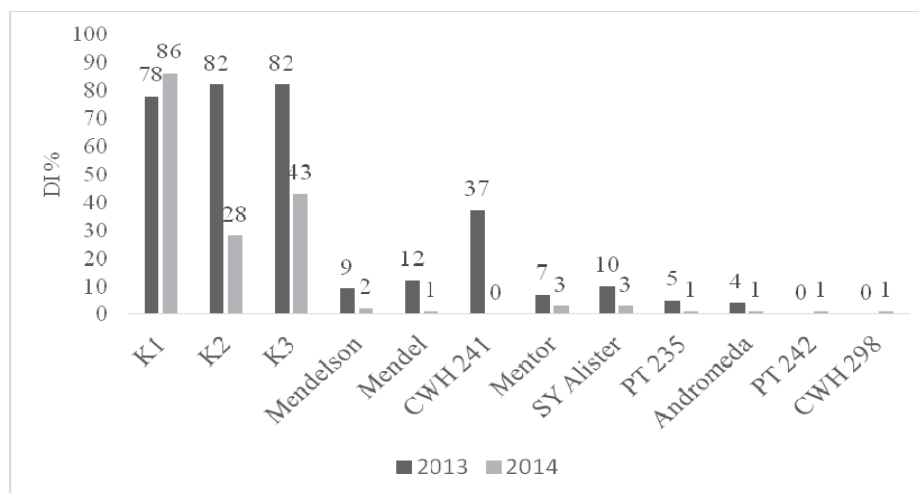
nedá ani předpokládat, vzhledem k podstatě rezistence. Odrůdy Andromeda a PT 235 dosáhly nejnižšího indexu napadení 4 % resp. 5 %, následovala odrůda Mentor - 7 %, odrůda Mendelson - 9 %, odrůda SY Alister - 10 % a odrůda Mendel - 12 %. Slabší výsledek odrůdy Mendel je zřejmě způsoben tím, že se jedná o nejstarší rezistentní odrůdu, která byla vyšlechtěna už v roce 2000, proto je možné, že se u ní projevuje eroze re-

zistence. Jako poslední se v pokusech umístila odrůda CWH 241, která dosáhla 37 % indexu napadení.

V sezóně 2014/2015 vykazovaly všechny rezistentní odrůdy po celý průběh pokusu podobný stupeň napadení (Graf 1). Žádná z odrůd nepřesáhla

kritickou hodnotu 25 %, která je považována za hranici mezi rezistentní a nerezistentní odrůdou. Míra napadení kontrolních, náchylných odrůd byla nejvyšší na parcele s Kontrolou 1 (celkově 86 %).

Graf. 1 – Index napadení rezistentních odrůd a kontrol.



V sezóně 2014/2015 byla provedena analýza pomocí kvantitativní PCR, která prokázala vysoké zamoření *P. brassicae* na celém pozemku. Krajní parcely vykazovaly vyšší napadení ($1 \cdot 10^4 - 4,1 \cdot 10^5$ spor/1g půdy), parcela s Kontrolou 2 vykazovala napadení nižší ($9,6 \cdot 10^3$), což se odrazilo i v nižším napadení rostlin (celkem 28 % ID). Parcela s Kontrolou 3 vykazovala podobný obsah spor ($2,9 \cdot 10^3$ /1g), napadení kořenů bylo ovšem vyšší (43 % ID). Míru napadení tedy lze dávat do souvislosti nejen s množstvím spor v půdě, ale i s její kvalitou. Okraj pole s parcelami, na kterém jsou Kontroly 3, je pravděpodobně více ztuhnut díky přejezdům zemědělské techniky, prostupnost vody je zde horší a ovlhčení vyšší, což je jeden z důležitých parametrů pro rozvoj nádorovitosti.

Flouščka kořenových krčků (měřená jen ve druhé sezoně) rezistentních odrůd se pohybovala v průměrném či nadprůměrném rozmezí. Nejnižších hodnot dosahovala odrůda SY Alister (11 a 12 mm), nejvyšších odrůda Mendelson (13 a 13,6 mm). Flouščka krčků Kontroly 1 byla nejnižší ze všech odrůd u obou měření – 7,7 a 6,6 mm. Průměrná flouščka krčků rezistentních odrůd byla 12,00 mm a průměr kontrol byl 10,00 mm.

Počet rostlin vstupujících do přezimování v sezóně 2013/2014 a jejich vyzimování na jednotlivých parcelách odpovídal míře napadení kořenů. U kontrolních parcel K1-K3 byla průměrná mortalita 6 respektive 7 rostlin na parcelu. U odrůdy CWH 241 uhynuly přes zimu 2 rostliny, u odrůdy Mendelson 1 rostlina a u odrůdy Mendel 2 rostliny. U ostatních odrůd byla zaznamenána nulová mortalita (vyzimování) rostlin.

Počet přezimujících rostlin v sezóně 2014/2015 byl u jednotlivých odrůd různý, v závislosti na jejich výsevku. Nejvyšší počet rostlin na 1 m^2 byl na podzim u odrůdy PT 242 (46 rostlin), nejnižší počet rostlin byl u Kontroly 3 (23 rostlin). K největšímu vyzimování rostlin došlo u odrůdy PT 242 (16 rostlin) a u Kontroly 2 (také 16 rostl.), nejmenší úbytek byl u odrůdy SY Alister (2 rostliny).

Tab. 2 – Výnos a sklizňová plocha pokusů v obou sezónách. *Výpočet výnosu při 8 % vlhkosti.

Odrůda	2013/ 2014		2014/2015	
	Výnos (t/ha*)	Sklizňová plocha (m ²)	Výnos (t/ha*)	Sklizňová plocha (m ²)
SY Alister	6,10	550	4,27	1169
Mentor	4,77	545	4,97	1086
K1	3,52	497	3,51	1161
Mendelson	3,44	548	4,37	1146
Mendel	3,56	697	4,34	1130
K2	4,35	559	4,42	1110
PT 242	x	x	5,03	1090
PT 235	4,53	766	4,37	1070
CWH 298	x	x	4,83	1051
Andromeda	5,46	549	4,65	1039
CWH 241	4,18	558	x	x
K3	3,50	750	4,44	1027

Výnos. V sezóně 2013/2014 se výnosově nejlépe umístila odrůda SY Alister, která dosáhla výnosu 6,78 t/ha, následovala odrůda Andromeda s 5,97 t/ha, dále pak odrůda Mentor, PT 235 (4,96 t/ha), CWH 241 (4,55 t/ha), Mendel (3,94 t/ha) a Mendelson (3,79 t/ha) (Tab 2 a Graf 2). Průměrný výnos rezistentních odrůd byl 5,03 %. Průměrný výnos kontrolních odrůd byl 3,79 t/ha. Celkový průměrný

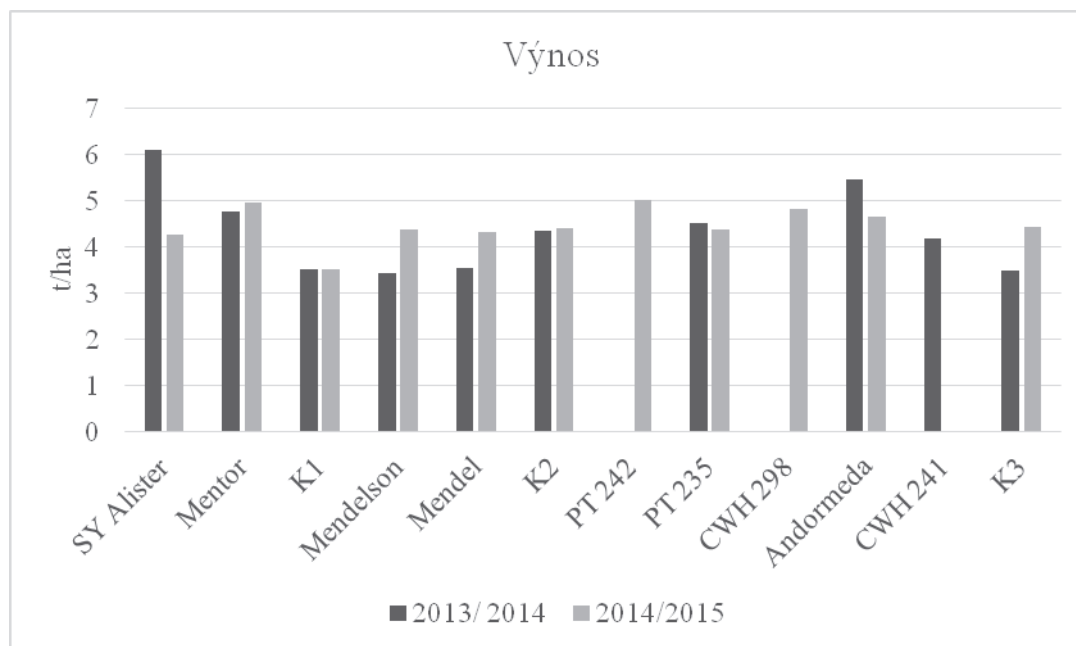
výnos pokusu byl 4,34 t/ha. Odrůdy Mendel a Mendelson dosáhly slabších výsledků v porovnání s ostatními rezistenty, podobných výsledků dosáhly i v německých registračních pokusech, kde se pohybovaly vždy cca 10 % pod průměrným výnosem dalších zkoušených odrůd.

V sezóně 2014/2015 nejvyšší výnos rezistentních odrůd byl u odrůdy PT 242 (5,03 t/ha), následovala odrůda Mentor (4,97 t/ha) a odrůda CWH 298 (4,83 t/ha), výkony dalších odrůd jsou vyrovnané. Nejnižší výnos byl zaznamenán u odrůdy SY Alister

(4,27 t/ha) (Tab. 2, Graf 2). Průměrný výnos rezistentních odrůd byl 4,6 t/ha. Průměrný výnos kontrolních odrůd byl 4,12 t/ha. Nejnižšího výnosu dosáhla Kontrola 1 (3,51 t/ha) a nejvyššího Kontrola 3 (4,44 t/ha). Celkový průměrný výnos pokusu byl 4,44 t/ha.

Vyšší výnos v první sezóně pokusů je pravděpodobně způsoben efektem menších parcel, na kterých by pokus založen a také pro řepku příznivějším průběhem vegetační sezóny, která byla v České republice rekordní.

Graf 2 – Výnos rezistentních odrůd



Preventivní opatření k zabránění šíření patogena v praxi

Pro infekci *Plasmodiophora brassicae* je třeba vhodných povětrnostních podmínek (vlhko, teplo) v době setí a počátku vegetace na podzim. Ne vždy ovšem (i při dodržení těchto podmínek) dojde k masové infekci a projevu symptomů. Nádorovitosti nahrává kromě počasí i zhuštění půdy a špatná propustnost vody půdním profilem, proto bývá infekce horší v zamokřených místech s utuženou půdou. Podpurným faktorem je i kyselé pH.

Na území ČR se vyskytují různé patotypy *Plasmodiophora brassicae*, proto je důležité věnovat pozornost výběru rezistentních odrůd řepky.

Při pěstování rezistentních odrůd řepky na zamořených pozemcích je nutné dodržování osevního postupu – nesít rezistory častěji než 1 za 3 roky, aby nedošlo k prolomení rezistence. Důležité je používání dalších podpurných opatření, jako je podryvání a prokypřování půdy, hubení brukvovitých plevelů, které mohou být zásobárnou infekce a zvýšení pH vápněním.

Všechny testované odrůdy, kromě odrůdy CWH 241, lze doporučit pro pěstování na tomto zamořeném pozemku.

Použitá literatura

- Ayers, G. W. 1944. Studies on the life history of the club root organism, *Plasmodiophora brassicae*. Canadian Journal of Research. 23: 143–149.
- Diederichsen, E., Frauen, M., Linders, E. G. A., Hatakeyama, K., Hirari, M. 2009. Status and perspectives of clubroot resistance breeding in crucifer crops. Journal of Plant Growth Regulation. 28: 265–81.
- Dixon, G. R. 2009a. The Occurrence and economic impact of *Plasmodiophora brassicae* and clubroot disease. Journal of Plant Growth Regulation. 28: 194–202.

- Dixon, G. R. 2009b. *Plasmodiophora brassicae* in its environment. *Journal of Plant Growth Regulation*. 28, 212–228.
- Gossen, B. D., Adhikari, K. K. C., McDonald, M. R. 2012. Effects of temperature on infection and subsequent development of clubroot under controlled conditions. *Plant Pathology*, 61: 593–599.
- Hwang, S. F., Strelkov, S. E., Feng, J., Gossen, B. D., Howard, R. J. 2012. *Plasmodiophora brassicae*: a review of an emerging pathogen of the Canadian canola (*Brassica napus*) crop. *Molecular Plant Pathology* 13(2): 105–113.
- Ingram, D. S. and Tommerup, I. C. 1972. The life history of *Plasmodiophora brassicae* Woron. *Proceedings of the Royal Society. London, Ser. B*. 180: 103–112.
- Kuginuki, Y., Yoshikawa, H., Hirai, M. 1999. Variation in virulence of *Plasmodiophora brassicae* in Japan tested with clubroot-resistant cultivars of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinesis*). *European Journal of Plant Pathology* 105: 327-332.
- Rod, J. 1996. Zprávy - původce nádorovitosti brukvovitých plodin. Brno: ÚKZUZ, 37 květen, roč. 1996, zvláštní číslo, s. 45.
- Strelkov, S.E., Tewari, J.P., Smith-Degenhardt, E. 2006. Characterization of *Plasmodiophora brassicae* populations from Alberta, Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology* 28: 467-474.
- Wallenhammar, A. C. 1996. Prevalence of *Plasmodiophora brassicae* in a spring oilseed rape growing area in central Sweden and factors influencing soil infestation levels. *Plant Pathology*. 45: 710–719.

Kontaktní adresa

Mgr. Veronika Řičařová, Katedra ochrany rostlin, FAPPZ, ČZU Praha, e-mail: Ricarova@af.czu.cz

Výzkum byl proveden za finanční podpory projektů NAZV QJ 1310227 a CIGA 201442031.