Peng, F., Hou, S.Y., Zhang, T.Y., Wu, Y.Y., Zhang, M.Y., Yan, X.M., Xia, M.Y., Zhang, Y.Z. (2019). Cytotoxic and antimicrobial indole alkaloids from an endophytic fungus *Chaetomium* sp. SYP-F7950 of *Panax notoginseng*. *RSC Adv*., 9(49), 28754–28763.

Porter, S.S., Sachs, J.L. (2020). Agriculture and the Disruption of Plant-Microbial Symbiosis. *Trends Ecol. Evol.,* 35(5), 426–439.

Prasad, K. (2020). Positive Importance of Arbuscular Mycorrhizal Fungi for Global Sustainable Agriculture and Environment Management for Green Technology. *Current Investig. Agric. Current Res.*, 9(2), 1182-1184.

Ramírez-Flores, M.R., Bello-Bello, E., Rellán-Álvarez, R., Sawers, R.J.H., Olalde-Portugal, V. (2019). Inoculation with the mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* modulates the relationship between root growth and nutrient content in maize (*Zea mays* ssp. *mays* L.). *Plant Direct*, 3(12), e00192.

Saunois, M., Stavert, A.R., Poulter, B., Bousquet, P., Canadell, J.G., Jackson, R.B., Raymond P.A.R., Dlugokencky, E.J., Houweling, S., Patra, P.K., et al. (2020). The Global Methane Budget 2000–2017. *Earth Syst. Sci. Data*, 12(3), 1561–1623.

Sena, L., Mica, E., Valè, G., Vaccino, P., Pecchioni, N. (2024). Exploring the potential of endophyte-plant interactions for improving crop sustainable yields in a changing climate. *Front. Plant Sci*., 15, 1349401.

Srivastava, P., Tiwari, S.P., Srivastava, A.K., Sharma, R. (2024). Optimization of Sterilization Parameters for Isolation of Endophytes from *Allium sativum* and Exploring its Antibacterial Activity. *J. Pure Appl. Microbiol.,* 18(2), 961–979.

Stępniewska, Z., Kuźniar, A. (2013). Endophytic microorganisms – promising applications in bioremediation of greenhouse gases. *Appl. Microbiol. Biotechnol.,* 97(22), 9589–9596.

Sun, C., Johnson, J.M., Cai, D., Sherameti, I., Oelmüller, R., Lou, B. (2010). Piriformospora indica confers drought tolerance in Chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought-related genes and the plastid-localized CAS protein. *J. Plant Physiol*., 167(12), 1009–1017.

Valente, J., Gerin, F., Le Gouis, J., Moënne-Loccoz, Y., Prigent-Combaret, C. (2020). Ancient wheat varieties have a higher ability to interact with plant growthpromoting rhizobacteria. *Plant Cell Environ*., 43(1), 246–260.

Verma, S., Varma, A., Rexer, K.H., Hassel, A., Kost, G., Sarbhoy, A., Bisen, P., Bütehorn, B., Franken, P. (1998). *Piriformospora indica,* gen. et sp. nov., a new root-colonizing fungus. *Mycologia*, 90(5), 895–903.

von Cräutlein, M., Helander, M., Korpelainen, H., Leinone, P.H., de Aldana, B.R.V., Young, C.A. (2021). Genetic Diversity of the Symbiotic Fungus *Epichloë festucae* in Naturally Occurring Host Grass Populations. *Front. Microbiol*., 12, 756991.

Wani, Z.A., Ashraf, N., Mohiuddin, T., Riyaz-Ul-Hassan, S. (2015). Plant endophyte symbiosis, an ecological perspective. *Appl. Microbiol. Biotechnol*., 99(7), 2955–2965.

Yan, L., Khan, R.A.A. (2021). Biological control of bacterial wilt in tomato through the metabolites produced by the biocontrol fungus, *Trichoderma harzianum*. *Egypt. J. Biol. Pest Control,* 31, 5.

Zahoor, M., Irshad, M., Rahman, H. (2017). Alleviation of heavy metal toxicity and phytostimulation of *Brassica campestris* L. by endophytic *Mucor* sp. MHR-7. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 142, 139–149.

Zhang, X.X., Li, C.J., Nan, Z.B., Matthew, C. (2011). *Neotyphodium* endophyte increases *Achnatherum inebrians* (drunken horse grass) resistance to herbivores and seed predators. *Weed Res*., 52(1), 70–78.

Zhou, X.R., Dai, L., Xu, G.F., Wang, H.S. (2021). A strain of *Phoma* species improves drought tolerance of *Pinus tabulaeformis*. *Sci. Rep*., 11, 7637.

Nové poznatky týkající se rezistence pšenice k viru zakrslosti pšenice (WDV)

(Novel findings in the study of wheat resistance to wheat dwarf virus (WDV))

Kosová Klára[1*], Vítámvás Pavel[1], Holková Ludmila[2], Smutná Pavlína[2]

[1]Odbor genetiky a šlechtění rostlin, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha 6-Ruzyně;

[2]Agronomická fakulta, Mendelova univerzita, Brno

Souhrn: Virus zakrslosti pšenice (WDV) je původcem závažného virového onemocnění pšenice, ale i ječmene a dalších obilnin vedoucí k diskoloraci listů, zakrslosti rostlin a významnému snížení výnosu. Virus je přenášen křískem polním a vyskytuje se převážně v sušších a teplejších oblastech ČR. Hodnocení rezistence je klasicky prováděno na základě hodnocení vizuálních symptomů (diskolorace listů, výška rostlin) a stanovením titru viru pomocí ELISA anebo qPCR. Byly identifikovány odrůdy pšenice se zvýšenou rezistencí k WDV (př. Mv Dalma, Mv Vekni), avšak dosud nebyly identifikovány geny podmiňující rezistenci k WDV. Nové metody genetického mapování GWAS zahrnující široký rozsah genotypů a využívající znalost kompletní sekvence genomu pšenice vedly k publikování QTL, resp. kandidátních genů vhodných pro šlechtění na zvýšenou rezistenci k WDV s využitím tzv. markerově-asistované selekce (MAS).

Klíčová slova: WDV; rezistence; fenotypování; GWAS; QTL pro rezistenci

Abstract: Wheat dwarf virus (WDV) causes disease of wheat, barley and other cereals leading to reduced growth, leaf discoloration, and yield reduction. WDV is transmitted by leafhoppers and occurs predominantly in relatively warm and dry regions of Czechia. Resistance of infected wheat plants is evaluated by phenotyping visual symptoms including plant height and leaf discoloration and virus titre determination with ELISA and qPCR. Although some cultivars (Mv Dalma, Mv Vekni) reveal partial resistance to WDV infection no resistance genes were identified until now. However, employing new methods of genetic mapping such as genome-wide association studies (GWAS) together with publication of complete annotated wheat genome sequence led to an identification of promising QTLs and candidate genes, respectively, suitable for breeding new materials with enhanced WDV resistance utilizing marker-assisted selection (MAS).

Key Words: WDV; resistance; phenotyping; GWAS; resistance QTL

Úvod

Virus zakrslosti pšenice (wheat dwarf virus; WDV) je jednovláknový cirkulární DNA virus (single-strand DNA) z čeledi Geminiviridae, rodu Mastrevirus, jehož viriony se vyznačují dvojčatovitou ikosaedrickou kapsidou (viz název čeledi Geminiviridae). Virus byl poprvé popsán dr. Vackem (1961) v Československu, ale vyskytuje se prakticky v celé Evropě, na Blízkém východě (Turecko, Sýrie), v severní Africe (Tunisko) i v Číně. Jeho výhradním přenašečem (vektorem) je křísek polní (*Psammotettix alienus*). Kromě pšenice seté (tzv. WDV-W forma) se WDV vyskytuje i u dalších obilnin včetně tritikale, ječmene (tzv. WDV-B forma), žita, ovsa a u trav (např. *Apera spica-venti, Avena fatua, A. sterilis, A. strigosa, Bromus secalinus, B. inermis, B. tectorum, Lagurus ovatus, Lolium multiflorum, L. perenne, Poa annua*), které tak představují rezervoár pro šíření WDV. Virus je rozšířený převážně v sušších a teplejších oblastech ČR, tj. východní Čechy, Haná, jižní Morava. Podrobný přehled o výskytu WDV na území ČR v letech 2005–2016 na základě hodnocení vzorků metodou ELISA podává certifikovaná metodika Chrpová et al. (2017).

Symptomy WDV: Mezi hlavní symptomy WDV patří zakrslost a zvýšené odnožování vytvářející trsnatý vzhled rostliny. Dalšími významnými symptomy jsou chloróza a žluté nebo červené diskolorace listů, nekrotické skvrny na listech, sterilita květů a redukce výnosu.

Hodnocení úrovně rezistence vůči WDV: U ozimých forem obilnin k nákaze obvykle dochází po vzejití do doby, než maximální denní teplota klesne pod přibližně 10 °C. Křísci preferují řídké porosty, proto se testované genotypy obvykle sejí na mikroparcely (Obr. 1), důležitý je také časný termín setí. Symptomatické hodnocení je však možné provádět až na jaře v období regenerace rostlin (Obr. 2). Vzhledem k nespecifičnosti symptomů je vždy nutné laboratorně prokázat přítomnost viru v rostlinách. V příznivých podmínkách napadené rostliny dále rostou, jsou však obvykle nižší a vytvoří méně klasů (Obr. 3).

Obr. 1: Mikroparcely pro testování odolnosti souboru genotypů pšenice ozimé vůči WDV v polních podmínkách (Polní pokusná stanice Žabčice, duben 2020)

Diverzita WDV: Wu et al. (2008) se zabývali fylogenetickou diverzitou genomu WDV. Fylogenetická analýza 230 izolátů viru rozlišila 6 kmenů A až F, přičemž kmeny A a F patří ke skupině WDV-B specializované na ječmen, zatímco kmeny B až E ke skupině WDV-W specializované na pšenici. V ČR byly na základě analýzy RFLP markerů izolovány kmeny WDV ze skupiny pšenice (WDV-W) i ječmene (WDV-B; Kundu et al. 2009), přičemž od každé skupiny byly na základě fylogenetické analýzy RFLP markerů identifikovány dva kmeny.

Obr. 2: Symptomatické hodnocení výskytu viróz po přirozené infekci v polních podmínkách, přítomnost WDV v suspektních rostlinách byla následně potvrzena qPCR (Polní pokusná stanice Žabčice, duben 2019)

Zdroje rezistence: V ČR byla zjištěna zvýšená rezistence, resp. snížený titr viru, u českých odrůd ozimé pšenice Banquet a Svitava (Širlová et al. 2005). Screening 40 odrůd ozimé pšenice nevedl k identifikaci žádného rezistentního genotypu; relativně vyšší odolnost, resp. nižší redukce výnosu, byla zjištěna u odrůd Astella, Boka, Bruneta, Bruta, Ilona, Ina, Mona, Regina, Saskia a Senta (Vacke a Cibulka 2000). Avšak screening maďarských odrůd ozimé pšenice vedl k detekci pouze mírných symptomů a sníženého pufru WDV u odrůd Mv Dalma a Mv Vekni, které lze považovat za potenciální zdroje rezistence (Benkovics et al. 2010). Obě odrůdy nesou žitnou translokaci 1AL.1RS, resp. 1BL.1RS a genom Mv Vekni navíc nese několik genů rezistence ke rzím (VPM-1, SR38, Lr37, YR17) původem z *Aegilops ventricosa* (Schneider et al. 2009).

Hledání QTLs a kandidátních genů spojených s rezistencí k WDV: Na rozdíl od viru žluté zakrslosti ječmene (BYDV) nebyl v případě WDV dosud identifikován žádný gen rezistence (Kosová et al. 2008), avšak moderní genomické asociační studie (GWAS) založené na nukleotidovém polymorfismu (SNP) spolu s využitím kompletní anotace pšeničného genomu (IWGSC 2018) vedly k identifikaci lokusů (QTL), resp. kandidátních genů souvisejících s rezistencí k WDV.

Pfrieme et al. (2022) publikovali genomovou asociační studii (GWAS) zaměřenou na mapování a identifikaci potenciálních QTLs spojených se zvýšenou odolností k WDV. Pro GWAS analýzu a mapování QTLs použili soubor 500 genotypů zahrnující 108 odrůd pšenice seté, 363 planých a domestikovaných genotypů pšenice z genové banky Leibnizova ústavu rostlinné genetiky (IPK), Gatersleben, Německo, a z národní sbírky NSGC, Aberdeen, WA, USA, a 29 syntetických pšenic z křížení pšenice tvrdé *T. durum* a *Aegilops tauschii*. Materiály z genové banky zahrnovaly diploidní druhy *Triticum boeticum, T. monococcum* a *T. urartu*, tetraploidní druhy *T. araraticum, T. dicoccoides,*

Obr. 3: Porovnání vzhledu infikovaných rostlin pšenice ozimé (vlevo a uprostřed) s neinfikovanou rostlinou (vpravo), přítomnost WDV byla následně potvrzena qPCR (Polní pokusná stanice Žabčice, červen 2019)

T. dicoccum, T. durum a *T. turgidum* a hexaploidní druhy *T. aestivum, T. macha, T. sphaerococcum, T. spelta* a *T. vavilovii*. Kromě pšenice byly v soubory zahrnuty rovněž genotypy *Aegilops*, konkrétně *Ae. bicornis, Ae. biuncialis, Ae. geniculata, Ae. kotschyi, Ae. longissima, Ae. peregrina, Ae. searsii, Ae. sharonensis* a *Ae. triuncialis* původem z Izraele, a k tomu ještě 85 *T. aestivum – Ae. tauschii* introgresních linií. Pro GWAS bylo použito 10,568 polymorfních SNP markerů. Byly mapovány lokusy pro kvantitativní znaky (QTL) zahrnující výšku rostlin, výnos a hmotnost tisíce zrn.

Bylo identifikováno 27 potenciálních QTLs. Většina identifikovaných QTLs byla lokalizována na chromosomu 1B, ostatní na chromosomech 2B, 3B, 4B, 5A, 6A a 7A. Na základě znalosti kompletní sekvence genomu pšenice byly pro detekované QTLs identifikovány kandidátní geny zahrnující geny podílející se na regulaci transkripce, umlčování genů pomocí RNA (tzv. posttranskripční RNA silencing) a geny kódující enzymy s proteinkinásovou aktivitou, např. SNF1 kinasy, které fosforylují virový protein ßC1 a tím ho značí pro degradaci prostřednictvím 26S proteasomu. SNP markery identifikované pomocí GWAS mohou být využity pro tvorbu dalších markerů, např. KASP markerů detekovatelných pomocí PCR, a tak využity pro markerově-asistovanou selekci (Pfrieme et al. 2022).

Závěr

Šlechtění pšenice na odolnost vůči WDV je obtížné, protože doposud nebyl nalezen žádný genotyp použitelný jako zdroj rezistence a také nebyly popsány žádné specifické geny navozující požadovanou úroveň rezistence. Klasické přístupy založené na fenotypování, tj. hodnocení symptomů infekce (výška rostliny, diskolorace listů, nekrotické léze, redukce výnosu) a stanovení titru viru v poslední době doplnily přístupy založené na genetickém mapování (genetické asociační studie) a znalosti kompletní sekvence genomu pšenice, které umožnily detekci QTL spojených s významnými fenotypovými symptomy WDV a identifikaci kandidátních genů podmiňujících tyto QTL (Pfrieme et al. 2022), což představuje významný pokrok v hledání rezistentních materiálů.

/Recenzováno/

Kontakt: * kosova@vurv.cz

Poděkování: Rukopis byl vypracován v rámci řešení projektu MZe ČR QL24010142 a institucionální podpory MZe ČR RO0423.

Literatura:

Benkovics A.H., Vida G., Nelson D., Veisz O., Bedford I., Silhavy D., Boulton M.I. (2010) Partial resistance to Wheat dwarf virus in winter wheat cultivars. Plant Pathology 59. 1144-1151.

Chrpová J., Sumíková T., Palicová J., Kumar J., Váňová M., Bílovský J., Veškrna O. (2017) Ochrana obilnin proti virovým chorobám (BYDV a WDV). Metodika pro praxi. VÚRV, v.v.i., Agrotest Fyto, s.r.o., Selton, s.r.o. ISBN: 978-80-7427-250-9.

IWGSC: The International Wheat Genome Sequencing Consortium (2018) Shifting the limits in wheat research and breeding using a fully annotated reference genome. Science 361: 6403.

Kosová K., Chrpová J., Šíp V. (2008) Recent advances in breeding of cereals for resistance to Barley Yellow Dwarf Virus – a review. Czech J. Genet. Plant Breed. 44: 1-10.

Kundu J.K., Gadiou S., Červená G. (2009) Discrimination and genetic diversity of Wheat dwarf virus in the Czech Republic. Virus Genes 38: 468-474.

Pfrieme A.K., Ruckwied B., Habekuß A., Will T., Stahl A., Pillen K., Ordon F. (2022) Identification and validation of quantitative trait loci for wheat dwarf virus resistance in wheat (Triticum spp.). Front. Plant Sci. 13: 828639.

Pfrieme A.K., Will T., Pillen K., Stahl A. (2023) The past, present, and future of Wheat dwarf virus management – a review. Plants 12: 3633.

Schneider A., Molnár-Láng M. (2009) Detection of the 1RS chromosome arm in Martonvásár wheat genotypes containing 1BL.1RS or 1AL.1RS translocations using SSR and STS markers. Acta Agronomica Hungarica 57: 409-416.

Širlová L., Vacke J., Chaloupková M. (2005) Reaction of selected winter wheat varieties to autumnal infection with Wheat dwarf virus. Plant Protection Sci. 41: 1-7.

Vacke J. (1961) Wheat dwarf virus disease. Biol. Plant. 3: 228-233.

Vacke J., Cibulka R. (2000): Response of selected winter wheat varieties to wheat dwarf virus infection at an early growth stage. Czech J. Genet. Plant Breed. 36: 1–4.

Wu B., Melcher U., Guo X., Wang X., Fan L., Zhou G. (2008) Assessment of codivergence of Mastreviruses with their plant hosts. BMC Evol. Biology 8: 335.

Soutěž technologií pěstování v Kroměříži 2024: Kvalita pšenice

(Competition in crop management practices Kroměříž 2024: Wheat grain quality)

Ondřej Jirsa, Ivana Polišenská, Ludvík Tvarůžek, Zdeněk Jergl
Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787/121, Kroměříž

Souhrn: Projekt Mezinárodní soutěž pěstebních technologií obilnin se v Kroměříži koná již od roku 2013. Tato technologická expozice je velmi oblíbená u praktických zemědělců, agronomů a specialistů poradenských služeb v zemědělství. Mezi účastníky jsou firmy zabývající se pesticidy, rostlinnými stimulátory a výživou rostlin, výrobci osiv a šlechtitelské firmy, univerzity, distributoři a samozřejmě praktičtí farmáři. Celkem 21 zúčastněných subjektů se 43 soutěžními variantami prezentovalo své technologie na 32 odrůdách ozimé pšenice. Nejčastější volbou účastníků byla odrůda LG Mondial, která byla použita ve 4 technologiích. Pouze čtvrtina variant (10, tj. 23 %) splnila ve všech čtyřech hodnocených parametrech požadavky ČSN na kvalitu potravinářské pekárenské pšenice. Nejčastějším problémem byl nižší Zelenyho test, v některých případech také nižší obsah bílkovin a nedostatečná objemová hmotnost. Ze 4 variant s pečivárenskými odrůdami (C_K) vyhověly požadavkům na tuto kategorii 2 varianty. Jediná varianta s pšenicí tvrdou (*Triticum durum*) požadavky kladené na kvalitu tvrdé pšenice splnila, včetně sklovitosti..

Klíčová slova: pšenice, kvalita, odrůdy, soutěž, technologie