

Česká technologická platforma pro zemědělství

Herbicidní rezistence dvouděložných plevelů

Ing. Pavlína Košnarová, Ph.D.



Činnost České technologické platformy pro zemědělství je finančně podporována
Ministerstvem zemědělství ČR



Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

katedra agroekologie a rostlinné produkce

Ing. Pavlína Košnarová, Ph.D.

Ing. Kateřina Hamouzová, Ph.D.

prof. Ing. Josef Soukup, CSc.

Ing. Jakub Mikulka

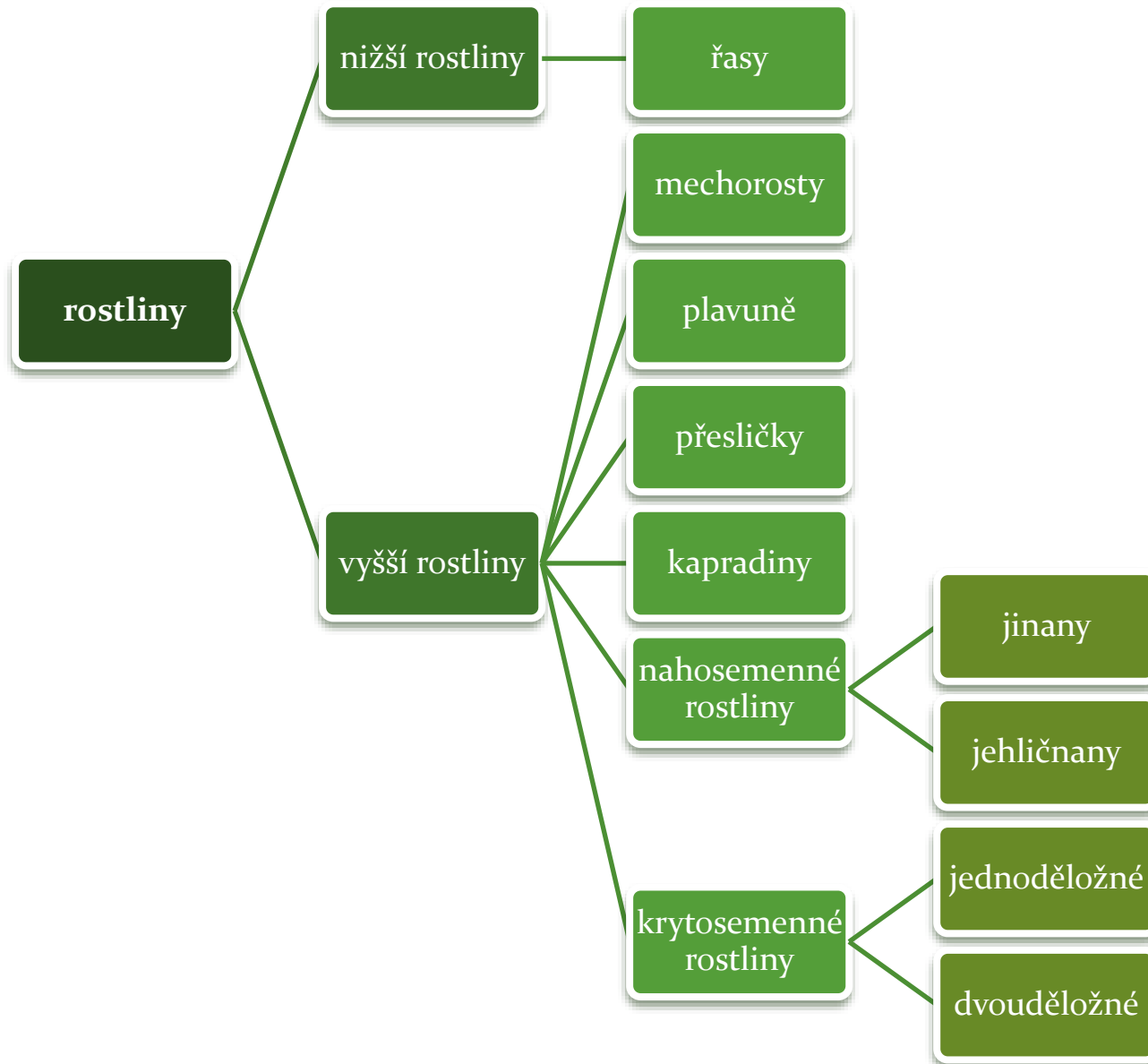
Ing. Jaromír Šuk

MSc. Madhab Kumar Sen

Obsah přednášky

- Úvod – znaky a rozdíly mezi jednoděložnými a dvouděložnými rostlinami
- Výzkum herbicidní rezistence na katedře agroekologie a rostlinné produkce, metody detekce
- Současný stav a případy významných dvouděložných plevelných druhů s potvrzenou herbicidní rezistencí
- Závěry z projektů

BOTANICKÝ SYSTÉM



DVOUDĚLOŽNÉ

JEDNODĚLOŽNÉ

- ✓ hvězdnicovité (*Asteraceae*)
- ✓ brukvovité (*Brassicaceae*)
- ✓ laskavcovité (*Amaranthaceae*)
- ✓ rdesnovité (*Polygonaceae*)
- ✓ krtičníkovité (*Scrophulariaceae*)
- ✓ hvozdíkovité (*Caryophyllaceae*)



ptačinec prostřední

- ✓ lipnicovité (*Poaceae*)
- ✓ sítinovité (*Juncaceae*)
- ✓ česnekovité (*Alliaceae*)
- ✓ šáchorovité (*Cyperaceae*)



kamyšník polní

DVOUDĚLOŽNÉ

- ✓ dvě dělohy uvnitř semene



- ✓ zpeřená nebo dlanitá žilnatina listů



JEDNODĚLOŽNÉ

- ✓ jedna děloha uvnitř semene

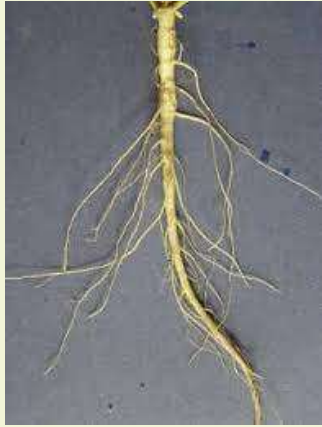


- ✓ souběžná žilnatina listů



DVOUDĚLOŽNÉ

- ✓ kořen hlavní + postranní



- ✓ rozlišené květní obaly na kalich a korunu, květ podle čísla 4 nebo 5



JEDNODĚLOŽNÉ

- ✓ náhradní svazčité kořeny



- ✓ nerozlišené květní obaly, květ podle čísla 3 nebo jeho násobků



Odlišnosti podmiňující selektivitu herbicidu

✓ Morfologicko-anatomické:

- uspořádání cévních svazků
- rozdíly v anatomické stavbě rostlinných pletiv
- umístění meristematických pletiv
- přilnavost herbicidu
 - jednoděložné - nižší přilnavost postřikových kapének než dvouděložné

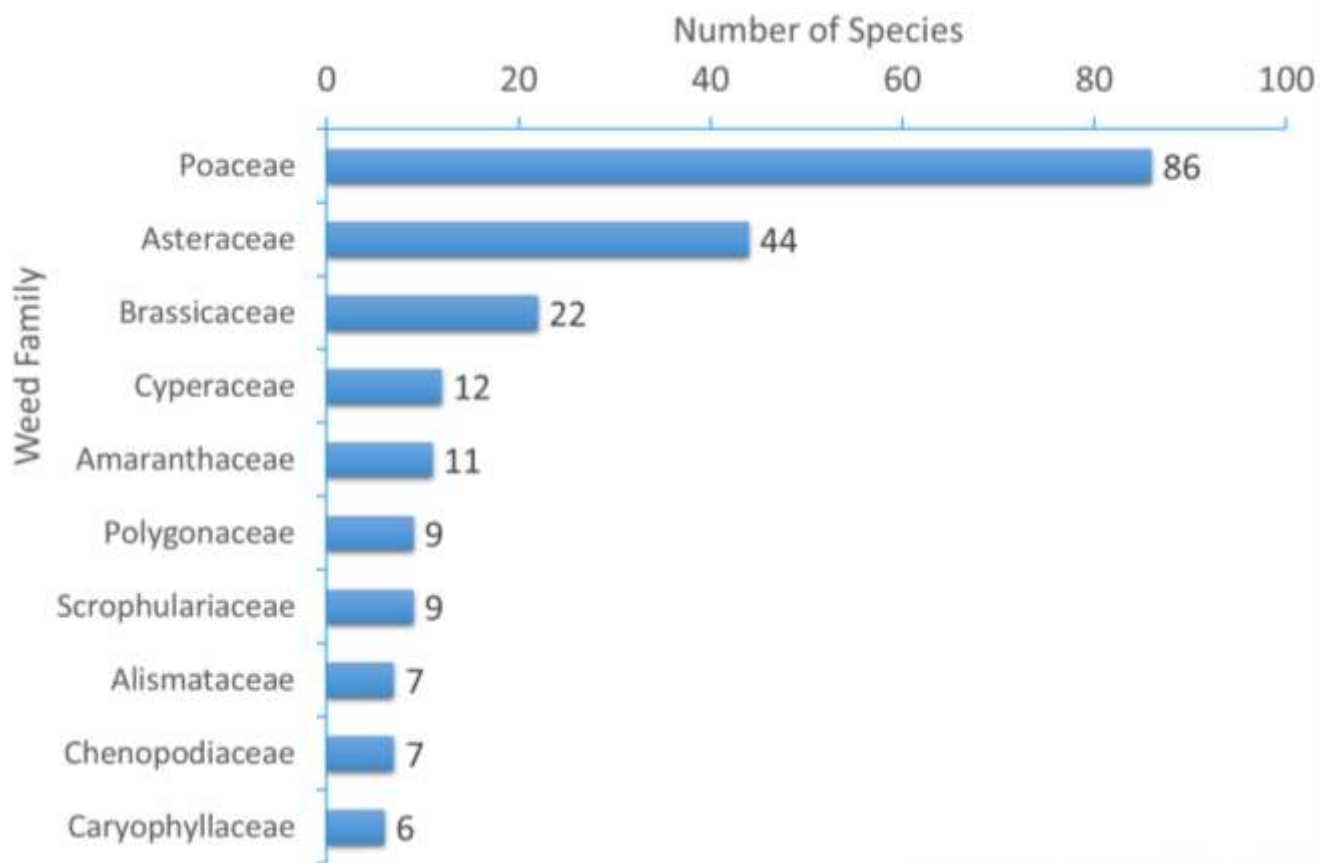
✓ Fyziologické a biochemické:

- metabolizace (degradace herbicidu)
- nadprodukce cílového enzymu

Selektivita herbicidů

- ✓ **Růstové herbicidy (syntetické auxiny)**
 - **MCPA, 2,4-D, dicamba, fluroxypyr, aminopyralid**
 - u jednoděložných omezena translokace, vysoká tolerance k většině těchto herbicidů
 - především k regulaci dvouděložných plevelů v obilovinách a kukuřici
- ✓ **Inhibitory acetylkoenzym A-karboxylázy (ACCázy)**
 - regulace trávovitých plevelů
 - listové graminicidy (z *Gramineae* - lipnicovité, dnes *Poaceae*)
 - inhibitory biosyntézy lipidů
 - některé (**fluazifop, haloxyfop, cycloxdim**) pouze ve dvouděložných plodinách)
 - **fenoxaprop a pinoxaden** i v obilninách (vyjma ovsa)

Celosvětové zastoupení herbicidně rezistentních druhů v deseti nejvýznamnějších čeledích



Plevelné druhy s potvrzenou herbicidní rezistencí na území ČR

Druh (český název)	Druh (latinský název)	Rok popsání	Účinná látka	Skupina herbicidů	Místo nalezení
Rdesno blešník	<i>Polygonum lapathifolium</i>	1982	atrazin	PS II inhibitory	železnice
Laskavec ohnutý	<i>Amaranthus retroflexus</i>	1985	atrazin	PS II inhibitory	železnice, kukuřice, cukrovka
		2017	terbuthylazin, metamitron	PS II inhibitory	kukuřice, cukrovka
Merlík bílý	<i>Chenopodium album</i>	1986	atrazin	PS II inhibitory	kukuřice, cukrovka
		2017	terbuthylazin, metamitron	PS II inhibitory	kukuřice, cukrovka
Turanka kanadská	<i>Conyza canadensis</i>	1987	atrazin	PS II inhibitory	železnice, sady, kukuřice
		2007	glyfosát	ESPS inhibitory	železnice
Starček obecný	<i>Senecio vulgaris</i>	1988	atrazin	PS II inhibitory	železnice, sady
Lipnice roční	<i>Poa annua</i>	1988	atrazin	PS II inhibitory	železnice, sady
Laskavec Powellův	<i>Amaranthus powellii</i>	1989	atrazin	PS II inhibitory	sady
Rdesno červivec	<i>Polygonum persicaria</i> (<i>Persicaria maculata</i>)	1989	atrazin	PS II inhibitory	železnice

Plevelné druhy s potvrzenou herbicidní rezistencí na území ČR

Druh (český název)	Druh (latinský název)	Rok popsání	Účinná látka	Skupina herbicidů	Místo nalezení
Ježatka kuří noha	<i>Echinochloa crus-galli</i>	1994	atrazin	PS II inhibitory	kukuřice
		2014	nicosulfuron	ALS inhibitory	kukuřice
Bytal metlatý	<i>Kochia scoparia</i>	1996	chlorsulfuron	ALS inhibitory	železnice
		1996	imazapyr	PS II inhibitory	železnice
Lilek černý	<i>Solanum nigrum</i>	1999	atrazin	PS II inhibitory	kukuřice
		2017	terbuthylazin, metamitron	PS II inhibitory	kukuřice, cukrovka
Rosička krvavá	<i>Digitaria sanguinalis</i>	2005	atrazin	PS II inhibitory	železnice
Chundelka metlice	<i>Apera spica-venti</i>	2005	chlorsulfuron	ALS inhibitory	pšenice
		2005	isoproturon	PS II inhibitory	pšenice
		2011	fenoxaprop	ACCase inhibitory	pšenice
Psárka polní	<i>Alopecurus myosuroides</i>	2008	chlorsulfuron	ALS inhibitory	pšenice
Sveřep jalový	<i>Bromus sterilis</i>	2017	pyroxsulam	ALS inhibitory	pšenice
Oves hluchý	<i>Avena fatua</i>	2017	propaquizafop	ACCase inhibitory	pšenice
Heřmánkovec přímořský	<i>Tripleurospermum inodorum</i>	2018	tribenuron	ALS inhibitory	pšenice
Mák vlčí	<i>Papaver rhoeas</i>	2018	tribenuron	ALS inhibitory	pšenice

Odběr vzorku v případě podezření na rezistenci a metody testování

- Polní pozorování – zprávy o snížené účinnosti herbicidů, aplikační historie pozemku, použitá dávka, půdní, klimatické podmínky
- Sběr semen – odběr reprezentativního vzorku v plné zralosti, kvalita důležitější než kvantita



Metody testování herbicidní rezistence

✓ Nádobové pokusy

- výsev semen populací s podezřením na rezistenci + citlivá kontrola
- aplikace účinných látek ve fázi plevelu doporučené výrobcem
- hodnocení účinnosti v porovnání s neošetřenou kontrolou 15/28/30 dní po aplikaci



Porovnání účinností přípravků na prokazatelně citlivé referenční populaci



- **Nádobové růstové testy**

Laboratorní komorový postřikovač PK-3 (AVIKO Praha, s.r.o.)

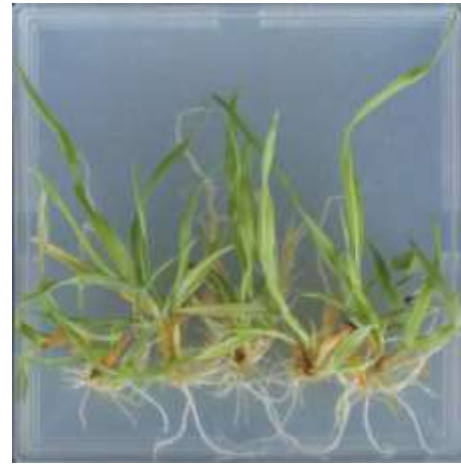


Metody detekce herbicidní rezistence

Syngenta resistance in-season quick test RISQ – metoda agarových kultur



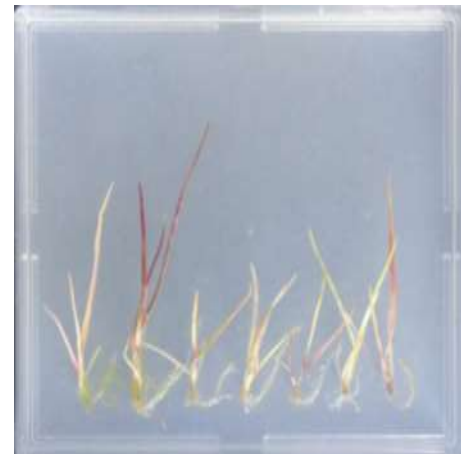
populace č.1: neošetřeno



populace č.1: iodosulfuron 6.4 μ M 10 DAT



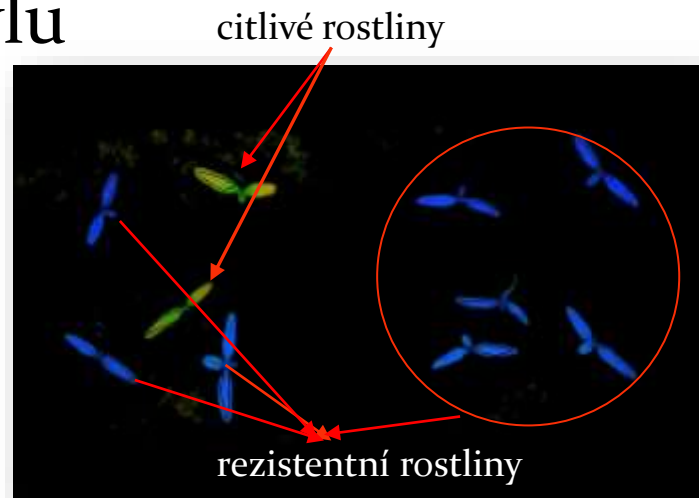
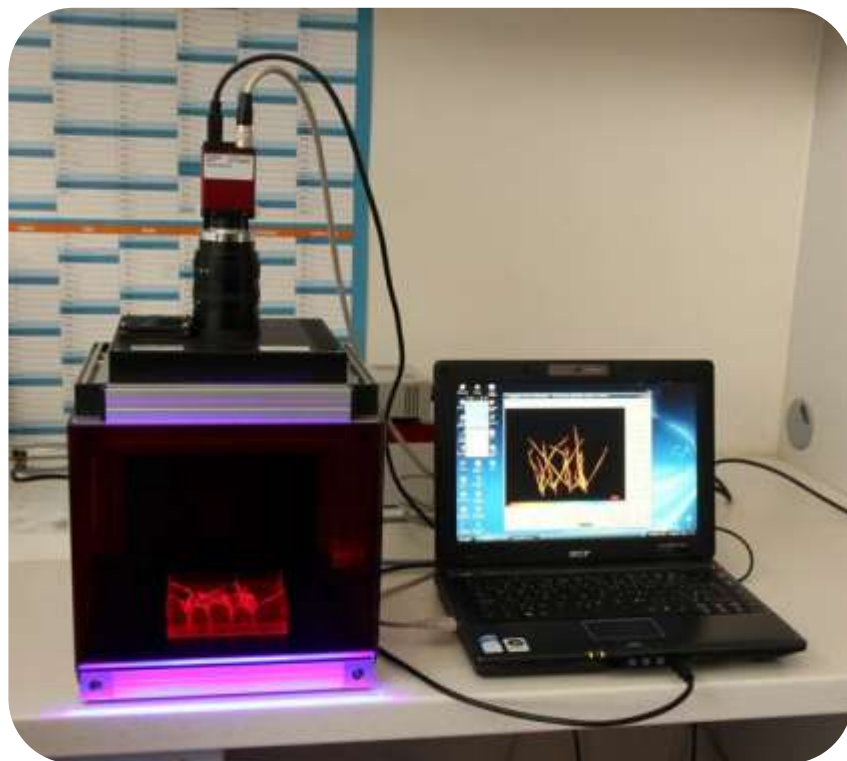
citlivá populace: neošetřeno



citlivá populace: iodosulfuron 6.4 μ M 10 DAT

Metody detekce herbicidní rezistence

Měření fluorescence chlorofylu



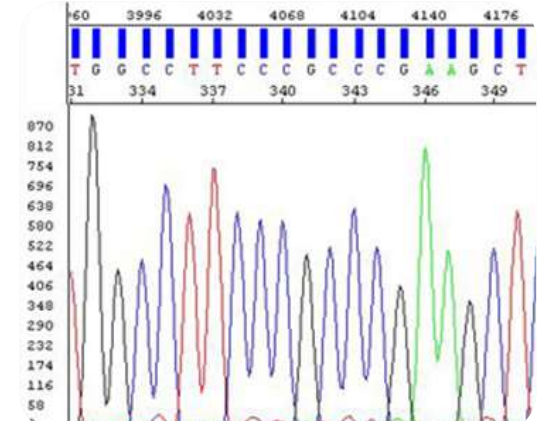
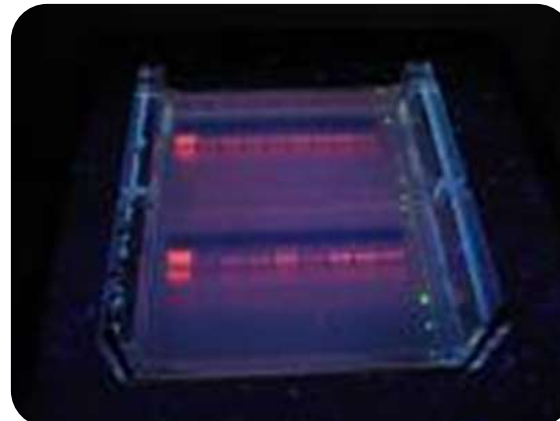
Měření fluorescence 1 den po aplikaci terbutylazinu



Měření fluorescence 3 dny po aplikaci terbutylazinu

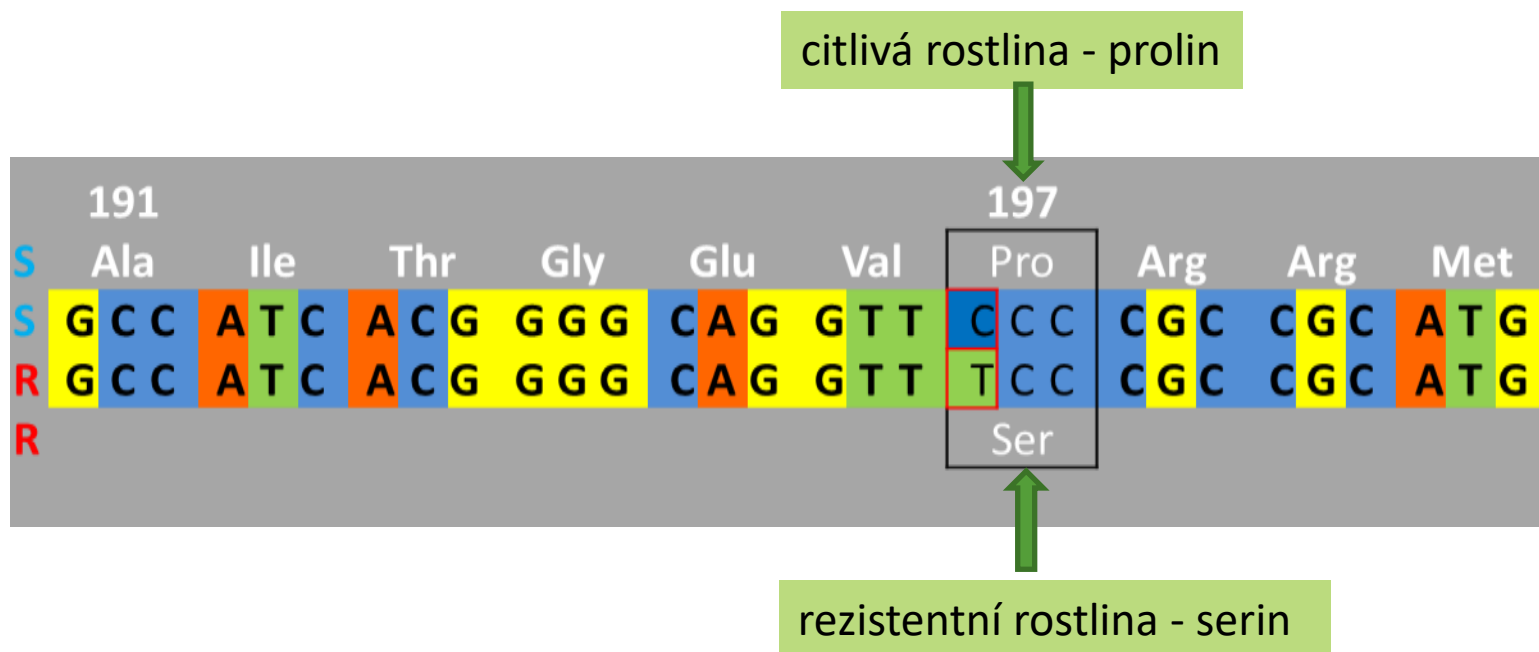
Metody detekce mechanismu herbicidní rezistence

- Molekulárně-genetické metody
 - Izolace DNA/RNA rostlin citlivého a rezistentního biotypu
 - Navržení specifických primerů (program Primer3)
 - Amplifikace zájmových oblastí genu pomocí PCR
 - Sekvencování fragmentů DNA (sekvenátor Beckman)
 - Překlad nukleotidových sekvencí pomocí programu ExPASy



Metody detekce herbicidní rezistence

- Detekce bodových mutací - porovnání sekvencí citlivého a rezistentního biotypu
záměna aminokyselin v místě účinku → neschopnost vazby herbicidu (tzv. **target-site resistance**)



Monitoring rezistence u dvouděložných

Od r. 2016 - 2019 projekt: Rozšíření herbicidní rezistence u **merlíku bílého, laskavce ohnutého a lilku černého** k PSII inhibitorům v ČR

Cíle:

1. analyzovat současný stav rezistence k PSII inhibitorům
2. stanovení mechanismů rezistence

Vzorky:

r. 2016 - odebráno 35 vzorků merlíku bílého, 15 vzorků laskavce ohnutého a 7 vzorků lilku černého

r. 2018 - odebráno 31 vzorků merlíku bílého, 19 vzorků laskavce ohnutého a 2 vzorky lilku černého

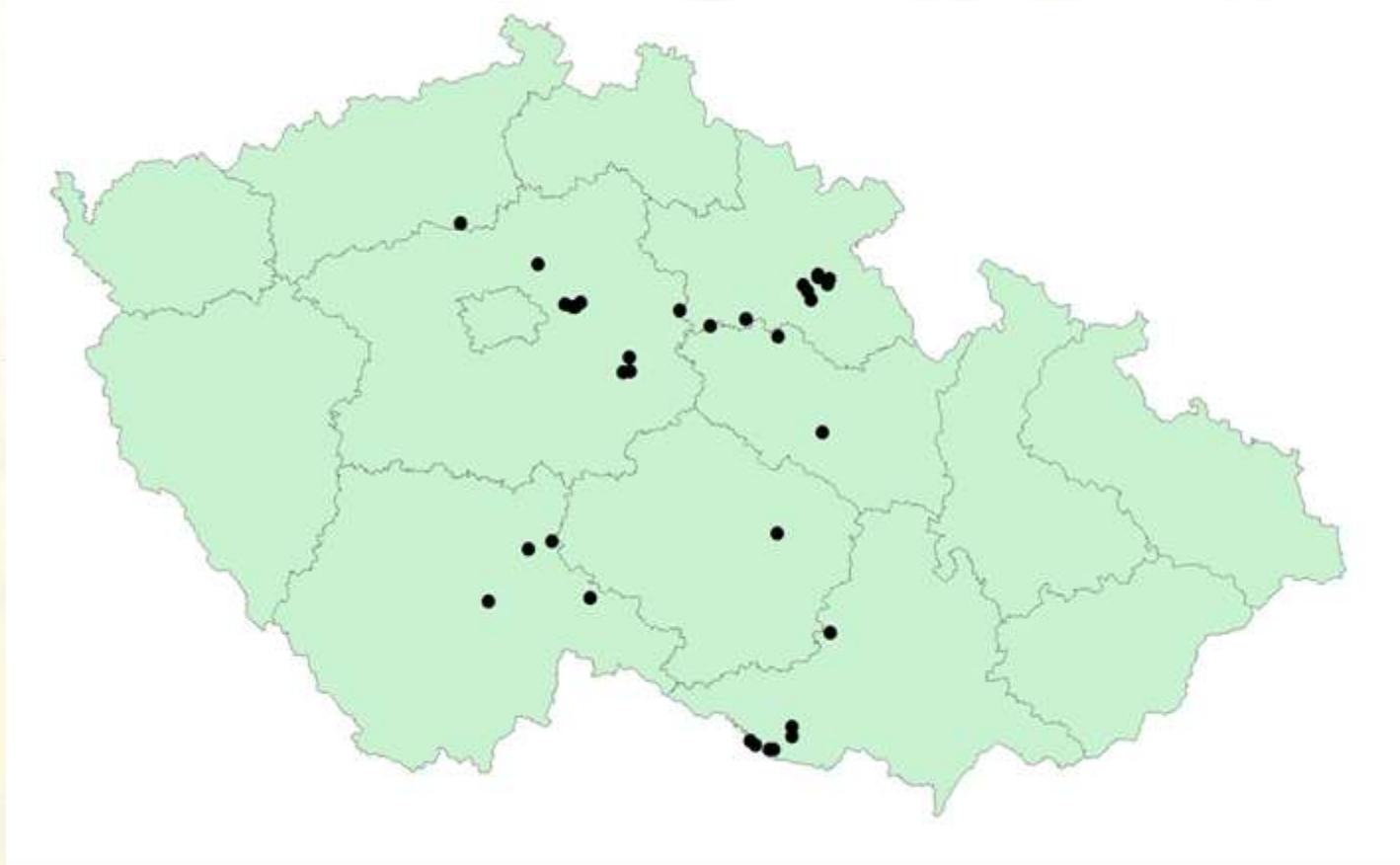
Testované účinné látky:

terbuthylazin - používán k preemergentnímu a časnému postemergentnímu ošetření kukuřice proti dvouděložným

metamitron - postemergentní selektivní herbicidy do cukrové řepy



Monitoring rezistence merlíku bílého v roce 2016



Výsledky projektu: cíl č. 1 - monitoring

- Sběry 2016:

druh	počet testovaných populací	rezistentních k terbuthylazinu	rezistentních k metamitronu
merlík bílý (<i>Chenopodium album</i>)	35	2	5
laskavec ohnutý (<i>Amaranthus retroflexus</i>)	15	4	12
lilek černý (<i>Solanum nigrum</i>)	7	1	2



Výsledky projektu: cíl č. 1 - monitoring

- Sběry 2018:

druh	počet testovaných populací	Rezistentních k terbuthylazinu	rezistentních k metamitronu
merlík bílý (<i>Chenopodium album</i>)	31	3	3
laskavec ohnutý (<i>Amaranthus retroflexus</i>)	19	9	11
lilek černý (<i>Solanum nigrum</i>)	1	1	1



Výsledky projektu: cíl č. 2 – mechanismus rezistence

- Testování populací s potvrzenou rezistencí stupňovanými dávkami - dose-response test



Faktor rezistence **RF**

$$RF = \frac{ED_{50} \text{ R biotyp}}{ED_{50} \text{ S biotyp}}$$

ED – efektivní dávka

Výsledky projektu: cíl č. 2 – mechanismus rezistence

POPULACE	AMARE-1	AMARE-9	AMARE-10	AMARE-14	AMARE-15
účinná látka	terbutylazín				
RF	3,033	2,164	120,492	>518,032	1,721
účinná látka	metamitron				
RF	0,636	0,622	3,275	4,369	0,384

POPULACE	CHEAL-5	CHEAL-6	CHEAL-7	CHEAL-21	CHEAL-35
účinná látka	terbutylazín				
RF	<1,428	<1,428	>518,032	>518,032	1,857
účinná látka	metamitron				
RF	2,186	1,759	10,648	30,402	1,508

Výsledky projektu: cíl č. 2 – mechanismus rezistence

Populace	CHEAL-7	CHEAL-21	AMARE-10	AMARE-14	SOLNI-7
% mutací psbA genu v pozici 264 (neošetřené rostliny)	17	75	40	94	40
% mutací psbA genu v pozici 264 (přeživší aplikaci terbuthylazinu)	100	100	90	100	100
% mutací psbA genu v pozici 264 (přeživší aplikaci metamitronu)	64	100	0	100	100

Monitoring rezistence u dvouděložných

Od r. 2019 - 2021 projekt: Výskyt a mechanismy rezistence k ALS inhibitorům a syntetickým auxinům u máku vlčího a heřmánkovce nevonného v České republice

Cíle:

- 1) analýza současného stavu herbicidní rezistence u těchto dvou významných dvouděložných plevelů
- 2) definovat mechanismy rezistence

Testované účinné látky:

ALS inhibitory:

tribenuron, florasulam - jarní ošetření obilnin

Růstové herbicidy:

2,4-D, dicamba - regulace dvouděložných v obilninách, kukuřici

Vzorky:

r. 2019 - odebráno 17 vzorků máku vlčího, 11 vzorků heřmánkovce nevonného

r. 2020 - odebráno 29 vzorků máku vlčího, 17 vzorků heřmánkovce nevonného

r. 2021 - odebráno 20 vzorků máku vlčího, 6 vzorků heřmánkovce nevonného



Výsledky projektu: cíl č. 1 - monitoring

- Mák vlčí

Rok testování	počet testovaných populací	rezistentních k tribenuronu	rezistentních k florasulamu	rezistentních k 2,4-D	rezistentních k dicambě
2019	17	2	0	0	0
2020	29	1	0	0	0
2021	20	3	0	-	-

- Heřmánkovec přímořský

Rok testování	počet testovaných populací	rezistentních k tribenuronu	rezistentních k florasulamu	rezistentních k 2,4-D	rezistentních k dicambě
2019	11	2	0	0	0
2020	17	3	0	0	0
2021	6	1	0	-	-

Výsledky projektu: cíl č. 1 – monitoring



Účinnost růstového herbicidu ve 4 dávkách u populace č. 2 heřmánkovce 30 dní po aplikaci



Účinnost ALS inhibitoru ve 4 dávkách u populace č. 2 heřmánkovce 30 dní po aplikaci

Výsledky projektu: cíl č. 2 – mechanismus rezistence



RF=171



Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů



33



Výsledky projektu: cíl č. 2 – mechanismus rezistence

Vzorek č.	Pozice Pro-197	Pozice Trp-574
MATIN-2_1	C/T-CA (Pro/Ser)	TGG (Trp)
MATIN-2_2	C/T-CA (Pro/Ser)	TGG (Trp)
MATIN-2_3	C/T-CA (Pro/Ser)	TGG (Trp)
MATIN-2_4	C/T-CA (Pro/Ser)	TGG (Trp)
MATIN-2_5	C/T-CA (Pro/Ser)	TGG (Trp)
MATIN-2_6	C/T-CA (Pro/Ser)	TGG (Trp)
MATIN-2_7	C/T-CA (Pro/Ser)	TGG (Trp)
MATIN-2_8	C/T-CA (Pro/Ser)	TGG (Trp)
MATIN-2_9	C/T-CA (Pro/Ser)	TGG (Trp)
MATIN-2_10	C/T-CA (Pro/Ser)	TGG (Trp)

Vzorek č.	Pozice Pro-197	Pozice Trp-574
MATIN-4_1	C-C/A-A (Pro/Gln)	TGG (Trp)
MATIN-4_2	C-C/A-A (Pro/Gln)	TGG (Trp)
MATIN-4_3	C-C/A-A (Pro/Gln)	TGG (Trp)
MATIN-4_4	C-C/A-A (Pro/Gln)	TGG (Trp)
MATIN-4_5	C-C/A-A (Pro/Gln)	TGG (Trp)
MATIN-4_6	C-C/A-A (Pro/Gln)	TGG (Trp)
MATIN-4_7	C-C/A-A (Pro/Gln)	TGG (Trp)
MATIN-4_8	C-C/A-A (Pro/Gln)	TGG (Trp)
MATIN-4_9	C-C/A-A (Pro/Gln)	TGG (Trp)
MATIN-4_10	C-C/A-A (Pro/Gln)	TGG (Trp)

Rezistence v místě účinku - záměny nukleotidů ve známých pozicích genu *als*



Závěry z projektů a výzkumu herbicidní rezistence dvouděložných plevelů

Druh	Rok detekce	Účinné látky	Mechanismus účinku herbicidů	Mechanismus rezistence
laskavec ohnutý	2017	terbuthylazin, metamitron	PSII inhibitory	target-site (v místě účinku)
merlík bílý	2017	terbuthylazin, metamitron	PSII inhibitory	target-site (v místě účinku)
lilek černý	2017	terbuthylazin, metamitron	PSII inhibitory	target-site (v místě účinku)
mák vlčí	2019	tribenuron	ALS inhibitory	target-site (v místě účinku)
heřmánkovec nevonný	2019	tribenuron	ALS inhibitory	target-site (v místě účinku)
ptačinec prostřední	2019	tribenuron, florasulam	ALS inhibitory	target-site (v místě účinku)





Děkuji za pozornost