

**Česká zemědělská univerzita v Praze**  
**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**  
**Katedra ochrany rostlin**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv výživy na rozvoj nádorovitosti kořenů brukvovitých  
způsobené patogenem *Plasmodiophora brassicae***

**Diplomová práce**

**Bc. Anna Divišová**

**Ing. Marie Maňasová, Ph.D.**

© 2024 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci „Vliv výživy na rozvoj nádorovitosti kořenů brukvovitých způsobené patogenem *Plasmodiophora brassicae*“, jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20. 4. 2024

\_\_\_\_\_ Anna Divišová

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí mé diplomové práce paní Ing. Marii Maňasové, Ph.D. za její vstřícnost, konzultační činnost, odborné vedení a cenné rady. Dále chci poděkovat doc. Ing. Martinu Kulhánkovi, Ph.D., za odborné konzultace v problematice výživy rostlin. V neposlední řadě, patří poděkování i mé rodině a partnerovi za veškerou podporu, kterou mi poskytli během celého studia.

# Vliv výživy na rozvoj nádorovitosti kořenů brukvovitých způsobené patogenem *Plasmodiophora brassicae*

## Souhrn

*Plasmodiophora brassicae* původce nádorovitosti kořenů brukvovitých patří mezi nejvýznamnější choroby brukvovitých, ať zeleniny nebo řepky olejky. Patogen přežívá v půdě mnoho let ve formě trvalých spor a jeho eradikace je značně obtížná. Je schopen se rychle šířit z pozemku na pozemek. Napadá kořenový systém rostlin, což má za následek změny v metabolismu, příjmu živin a buněčné struktuře rostlin.

Vyrovnaná výživa rostliny má vliv na její obrané mechanismy i na vývoj patogena uvnitř hostitele. Cílem této práce bylo zhodnotit vliv výživy, zejména dusíku a síry, na rozvoj nádorovitosti kořenů brukvovitých způsobené patogenem *Plasmodiophora brassicae* na univerzálním náchylném hostiteli pekingském zelí var. Granaat (*Brassica campestris* spp. *pekinensis* cv. Granaat).

V letním období byl založený hydroponický pokus, který selhal z důvodu špatně zvoleného výplňového materiálu. Následně byl založen obdobný pokus v substrátu. V pokusu bylo testováno dvacet variant po osmi oddělených květináčích na jednom podkvětníku ve variantě. Varianty měly po dvojicích stejné podmínky hnojení a jedna z dvojice byla inokulována patogenem. Varianty měly různě dodané množství dusíku a síry, přičemž jedna varianta byla pouze kontrolní bez hnojení. Dusík i síra jsou součástí glukosinolátů, jejichž metabolismus je úzce spojen s metabolismem auxinů. Patogen v kořenech hostitelské rostliny ovlivňuje obě metabolické dráhy a to přispívá k potlačení nebo zhoršení projevů symptomů dané choroby.

Při vyhodnocení výsledků bylo zjištěno, že se varianty od sebe liší. Mezi všemi napadenými variantami nejlépe vycházela varianta V5B, kde byly rostliny bez napadení (0) nebo s nižším stupněm napadení (1; 2) ve větším zastoupení, než rostliny se silným stupněm napadení (3). Přestože varianta vykazovala nižší napadení, byla stále napadená, a proto rozdíl nebyl statisticky významný v porovnání s ostatními variantami. Byl vypočten index napadení, který nedosáhl stanovené hranice, a proto byla reakce V5B vyhodnocena jako náchylná. Ekvivalentní varianta V5A se shodnými podmínky dodaného dusíku a síry, byla na tom s výnosem nejlépe ze všech variant.

**Klíčová slova:** *Plasmodiophora brassicae*, nádorovitost košťálovin, hnojení, dusík, síra

# The influence of nutrition on the development of clubroot caused by the pathogen *Plasmodiophora brassicae*

## Summary

*Plasmodiophora brassicae*, the causal agent of clubroot of Brassicaceae, is one of the most significant diseases of Brassicas, whether vegetables or oilseed rape. The pathogen persists in the soil for many years as resting spores and eradication is very difficult. It is capable of spreading rapidly from parcel to parcel. It attacks the root system of plants, this leads to changes in metabolism, nutrient uptake and plant cell structure.

The balanced nutrition of a plant affects its defence mechanism and the development of the pathogen inside the host. The aim of this study was estimating the effect of nutrition, especially nitrogen and sulphur, on the development of clubroot caused by the pathogen *Plasmodiophora brassicae* on the universal susceptible host Peking cabbage cv. Granaat (*Brassica campestris* spp. *pekinensis* cv. Granaat).

In the summer season was started a hydroponic experiment, which failed due to poorly chosen filler material. Subsequently, a similar experiment was based on substrate. In the experiment, twenty variants were tested, one variant consisted of eight separate pots on one plate. The variants had the same fertilization conditions in pairs and one of the pair was inoculated with the pathogen. Variants had different supplied amounts of nitrogen and sulphur, including one variant being a control with no fertilization. Nitrogen and sulphur are components of glucosinolates, whose metabolism is closely related to the metabolism of auxin. The pathogen in the roots of the host plant affects both metabolic pathways and it contributes to inhibition or worsening of the symptoms of the disease.

Based on the evaluation of the results, it was found that the variants differ from each other. Among all infested variants V5B was the best, where plants with no infestation (0) or with smaller degree of infestation (1; 2) were more abundant than plants with a strong degree of infestation (3). Although the variant showed a lower infestation, it was still infested and therefore the difference was not statistically significant compared to the other variants. A disease index was calculated which did not reach the specified threshold and therefore the V5B response was assessed as susceptible.

The equivalent variant V5A, with identical nitrogen and sulphur supply conditions, was the best performing of all the variants in terms of yield.

**Key words:** *Plasmodiophora brassicae*, clubroot, fertilization, nitrogen, sulphur

# Obsah

1	Úvod.....	8
2	Vědecká hypotéza a cíle práce.....	9
2.1	Cíl práce.....	9
2.2	Hypotéza.....	9
3	Literární rešerše.....	10
3.1	<i>Plasmodiophora brassicae</i> původce nádorovitosti kořenů brukvovitých ....	10
3.1.1	Taxonomie.....	11
3.1.2	Historie a výskyt.....	11
3.1.3	Ontogeneze.....	12
3.1.4	Metody diagnostiky a patotypování.....	15
3.1.5	Změny ve společenství endofytních hub při napadení <i>P. brassicae</i> .....	18
3.2	Čeled' brukvovité (Brassicaceae).....	18
3.2.1	Pěstování brukvovitých plodin v České republice a ve světě.....	19
3.2.2	Brukvovité plevele.....	19
3.3	Výživa a hnojení hlavních brukvovitých plodin.....	20
3.3.1	Košťálová zelenina.....	20
3.3.2	Polní plodiny.....	21
3.3.3	Vliv výživy na původce nádorovitosti košťálovin.....	22
3.4	Ochrana před nádorovitostí košťálovin.....	22
3.4.1	Osevní postup.....	23
3.4.2	Prevence šíření.....	23
3.4.3	Lapací rostliny.....	24
3.4.4	Fyzikální metody.....	25
3.4.5	Chemická ochrana.....	25
3.4.6	Biologická ochrana.....	26
3.4.7	Rezistentní odrůdy.....	26
3.5	Glukosinoláty.....	27
3.5.1	Chemická struktura glukosinolátů.....	27
3.5.2	Reakce a změny.....	29
3.5.3	Obsahy GLS před a po infekci <i>P. brassicea</i> .....	30
3.6	Fytohormony (role při tvorbě nádorů).....	31

3.7	Metabolismus rostlin při napadení <i>P. brassicae</i> .....	32
3.7.1	Koncentrace IAA v infikovaných rostlinách a související morfologické změny .....	32
3.7.2	Metabolismus GLS a IAA .....	33
3.7.3	Strategie obrany a růstu rostlin podle povahy poškození .....	33
4	Materiál a metody .....	34
4.1	Pokus v substrátu .....	34
4.1.1	Vyhodnocení pokusu .....	37
4.1.2	Posklizňové analýzy obsahu živin v sušině rostlin .....	38
4.2	Hydroponie .....	39
5	Výsledky .....	41
5.1	Pokus v substrátu .....	41
5.1.1	Kvantitativní parametry .....	41
5.1.2	Napadení kořenů patogenem <i>P. brassicae</i> .....	44
5.1.3	Obsahy prvků v sušině rostlin .....	45
5.2	Hydroponie .....	50
6	Diskuze .....	51
6.1	Pokus v substrátu .....	51
6.1.1	Kvantitativní parametry .....	51
6.1.2	Napadení kořenů patogenem <i>P. brassicae</i> .....	52
6.1.3	Obsahy živin v sušině rostlin .....	52
6.2	Hydroponie .....	54
7	Závěr .....	55
8	Seznam literatury .....	56
9	Seznam použitých zkratek a symbolů .....	70
10	Samostatné přílohy .....	I
10.1	Tabulky .....	I
10.2	Grafy .....	I
10.3	Obrázky .....	I

# 1 Úvod

S rozvojem pěstování brukvovitých plodin, převážně řepky olejky (*Brassica napus* var. *oleracea*), dochází na pěstitelských plochách k nárůstu výskytu kořenné choroby nádorovitosti brukvovitých způsobené patogenem *Plasmodiophora brassicae*. Patogen se vyskytuje ve více než 60 zemích a v celosvětovém měřítku způsobuje 10 – 15% snížení výnosů. Patogen má spoustu předpokladů pro dlouhodobé přežívání na zamořených pozemcích díky dobře chráněným a dlouho žijícím sporám v půdě, zároveň jsou spory schopny rychle reagovat na přítomnost kompatibilního hostitele. Také produkuje velké množství nových klidových spor a obnovuje tak potenciál půdního inokula (Dixon 2009; Hwang et al. 2011; Javed et al. 2022).

Patogen *P. brassicae* je obligátní biotrofní organismus, který v rámci životního cyklu způsobuje v kořenech brukvovitých rostlin primární a sekundární infekci. Projevem této infekce jsou nejen nádory, ale i žloutnutí až fialovění listů a inhibice růstu rostliny. V rámci sekundární infekce se v kořenech vytvářejí trvalé spory, které se poté uvolní do půdy v důsledku rozpadu napadených kořenů (Javed et al. 2022).

Proti boji s touto chorobou jsou stále mezery ve znalostech. Zatím neexistuje jednoduchý, levný a environmentálně šetrný způsob chemické ochrany proti tomuto patogenovi. Vztah hostitele a patogena reaguje na podmínky prostředí a řadu regulačních opatření, jako je manipulace s pH a doplnění živin, aplikace fungicidů apod. v rámci integrovaného přístupu. V tomto kontextu nabývá významu zabývat se vlivem výživy rostlin na rozvoj nádorovitosti brukvovitých způsobené *P. brassicae*. (Donald a Porter 2009; Řičařová et al. 2017).

Stav dusíku a síry má vliv jak na buněčnou fyziologii patogena, tak na odolnost rostliny. Nízké dávky dusíku v některých případech vycházejí lépe a v jiných případech jsou zase vhodnější nižší dávky. Závisí to i na formě a také podmínkách pěstování plodiny (Bloem et al. 2004; Laperche et al. 2017; Gazengel et al. 2021; Aigu et al. 2022).

Dusík a síra jsou prvky tvořící glukosinoláty, látky obsažené v brukvovitých rostlinách. Tyto sekundární metabolity mohou hrát svou roli při napadení patogenem. Reakce pak může být náchylnější k tvorbě nádorů na kořenech, nebo naopak může vznikat méně symptomů napadení (Velíšek 2002b; Kayum et al. 2020; Maršić et al. 2021; Aigu et al. 2022).

Glukosinoláty jsou zároveň úzce provázány s metabolismem auxinů. Auxiny spolu s cytokininy, dalšími rostlinnými hormony, v napadených pletivech hostitelských buněk jsou spojeny s expanzí a ztrátou diferenciace buněk. Tyto změny vedou k tvorbě nádorů, které se stávají zásobníkem živin. (Rolfé et al. 2016; Prerostova et al. 2018).



## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

### **2.1 Cíl práce**

Zhodnotit vliv výživy zejména pak dusíku a síry na rozvoj onemocnění nádorovitosti brukvovitých.

### **2.2 Hypotéza**

Existuje statisticky významný rozdíl v napadení patogenem *Plasmodiophora brassicae* při různých schématech hnojení.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 *Plasmodiophora brassicae* původce nádorovitosti kořenů brukvovitých

*Plasmodiophora brassicae* je obligátní biotrofní pudní eukaryotní patogen, který napadá všechny rostliny z čeledě brukvovité (Brassicaceae), u některých zástupců, jako jsou Rukevník východní (*Bunias orientalis*), vranožka šupinatá (*Coronopus squamatus*) a ředkev setá (*Raphanus sativus*), byla zjištěna trvalá rezistence vůči *P. brassicae* i přes její variabilitu virulence. Napadá však i jiné rostliny, které nejsou z již zmíněné čeledě např. rýt vonný (*Reseda odorata*), lichořeřišnice větší (*Tropaeolus majus*), jetel plazivý (*Trifolium repens*), jílek vytrvalý (*Lolium perene*), srha laločnatá (*Dactylis glomerata*), medyněk vlnatý (*Holcus lanatus*), jahodníky (*Fragaria* sp.), mák vlčí (*Papaver rhoeas*). *Plasmodiophora brassicae* způsobuje chorobu nádorovitost kořenů brukvovitých, další názvy jsou například: plasmodioforová nádorovitost brukvovitých, boulovitost kořenů brukvovitých, boulovitost, plasmodiofora, hlenka, nádorovka kapustová (Graf et al. 2004; Javed et al. 2022).

*Plasmodiophora brassicae* nejprve infikuje kořenové vlásky a produkuje pohyblivé zoospory, které napadají kořenovou kůru. V kořenové kůře se vytvářejí sekundární plazmodia, která spouštějí expresi genů podílejících se na produkci auxinů, cytokininů a dalších regulátorů růstu rostlin a přeměrovávají značnou část rostlinných zdrojů do hypertrofického růstu kořenových pletiv, což vede k tvorbě hálek. Sekundární plazmodia se štěpí na miliony klidových spor a kořenové háčky se rychle rozpadají a uvolňují dlouho žijící klidové spory do půdy (Hwang et al. 2011).

Příznaky napadení u plodin, jsou žlutozelené až fialové listy, které často vadnou a jejich růst je inhibován. Na kořenech jsou vidět ztloustlá místa následně boule různých tvarů a velikostí, obvykle vřetenovitý tvar (jsou nejtlustší uprostřed a směrem ke koncům se zužují). Nádory mohou být na kořenovém vlášení, postranních kořenech, křídlovém kořeni nebo dokonce na kořenovém krčku. Boule jsou zprvu bělavé a kompaktní, později vnitřní pletivo hnědne (nebo je šedobílé), ke konci vegetace se nádor rozpadá. U brukvovité zeleniny je příznak choroby obdobný. Na kořenech se utváří nádory různých tvarů a velikostí (často váží víc než 1 kg), velmi brzy podléhají bakteriálnímu rozpadu. Poškození kořenového systému ovlivňuje negativně příjem vody a živin, tím rostliny rostou pomaleji a konzumní část buď neuvytvářejí nebo jen ve zhoršené kvalitě. Rostliny v prvních fázích také vadnou, ale jen za slunného počasí, později je vadnutí trvalé. Starší listy se zbarvují do fialova až červena. Velmi napadené rostliny hynou. Začátek symptomů a doba infekce závisí na typu hostitele, virulenci, patotypu, počtu odpočívajících spor v půdě a optimálních environmentálních faktorech, jako je teplota půdy, vlhkost a pH (Sherf a MacNab 1986; Javed et al. 2022; Rostlinolékařský portál 2024).

V prvních fázích vývoje nádoru se dají zaměnit s háčkami, které se tvoří v reakci na poškození krytonoscem zelným (*Ceutorhynchus pleurostigma*). Háčky krytonosců, ale nezpůsobují prakticky žádné poškození. Háčky je možné rozeznat, když je rozřízneme. V hálce krytonosce budu chodbičky vyžrané larvami brouka, v případě nádorovitosti bude pletivo celistvé (De Pietri-tonelli 1950; Kazda et al. 2010).

Podle náchylnosti lze hostitele rozdělit na nejvíce náchylné, středně náchylné, mírně náchylné a velmi odolné nebo příležitostně imunní. Nejvíce náchylné jsou pekingské zelí, hlávkové zelí, růžičková kapusta, některé druhy tuřínu, trýzel malokvětý a iberka. Středně náchylné kedlubna, kadeřavá kapusta, květák, brokolice, některé druhy tuřínu a ředkviček, katarán přímořský. Mírně náchylné – řepka, hořčice černá, některé druhy tuřínu, ředkviček, hulevník vysoký. Velmi odolné a příležitostně imunní – barborka obecná, křen selský, kokoška pastuší tobolka, chejř vonný, večernice vonná, řeřicha virginská, řeřicha setá a některé ředkvičky (Sherf a MacNab 1986).

### 3.1.1 Taxonomie

*Plasmodiophora brassicae* Woronin 1877 – aktuální taxonomické zařazení dle NCBI: buněčné organismy; Eukaryota; Sar; Rhizaria; Endomyxa; Phytomyxea; Plasmodiophorida; Plasmodiophoridae; Plasmodiophora (Schoch et al. 2020).

Z ostatních obligátně biotrofních fytopatologicky závažných hub z čeledi Plasmodiophoridae a tím i taxonomicky nejbližších k *P. brassicae*, jsou například *Polymyxa betae*, která je přenašečem (vektorem) závažné virové rhizománie řepy, nebo *Polymyxa graminis*, která je půdním parazitem kořenů obilnin a zároveň je přenašečem ekonomicky významných rostlinných virů. Dále *Spongospora subterranea*, původce prašné strupovitosti brambor. (Rod 1993; Ryšánek et al. 2016; De Vienne 2016; Schwelm et al. 2017).

Woronin založil rod *Plasmodiophora* a považoval je za třídu Myxomycetes (Woronin, M. S. 1877). V té době byly Myxomycetes považovány za houby (Fungi), zahrnující i *P. brassicae* a další plasmodioforidy, dnes už tomu tak není. Společný znak *Plasmodiophora brassicae* a říše Fungi je chitin v buněčné stěně odpočívajících trvalých spor (Muirhead a Pérez-López 2022). Naopak se od Fungi a Oomycetes liší v křížovém jádrovém dělení, dvoubíčíkatými sekundárními zoosporami, multinukleárními plazmodiemi a uninukleárními trvalými sporami, absencí vláknitého růstu – mycelia (Schwelm et al. 2015; Javed et al. 2022).

### 3.1.2 Historie a výskyt

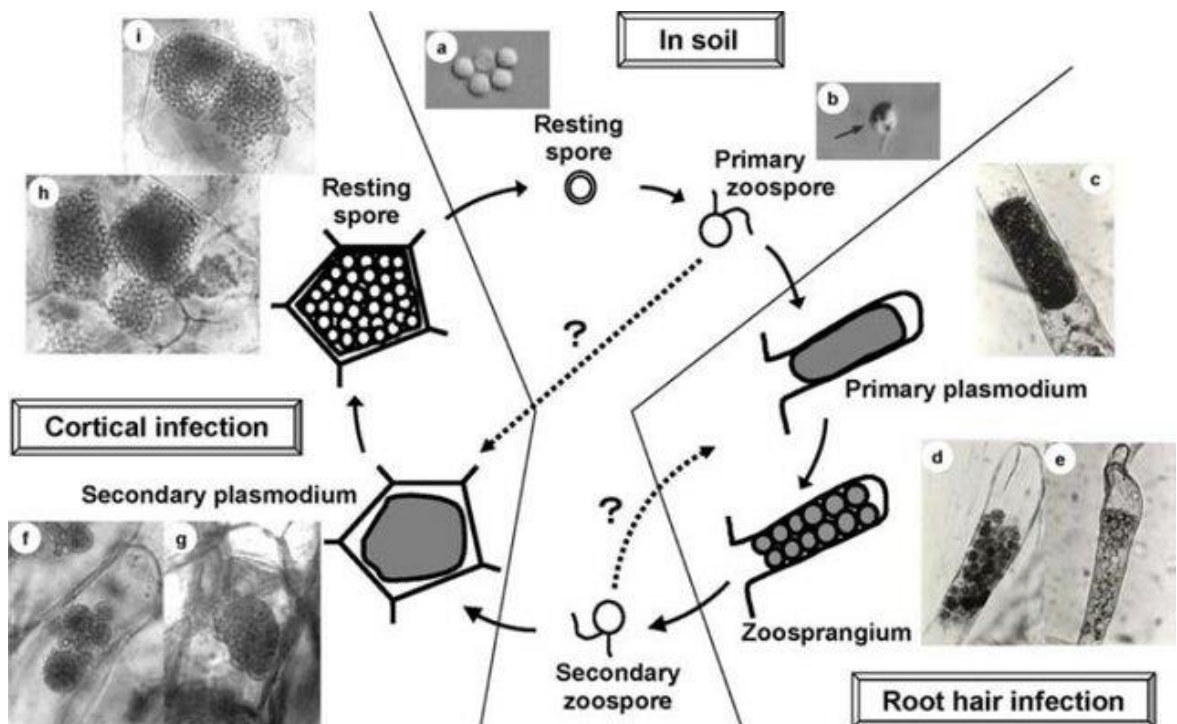
Nádorovitost kořenů brukvovitých způsobuje významné ztráty v pěstování olejnin a zeleniny po celém světě a již dlouho je jedním z hlavních omezení pro pěstování brukvovitých rostlin. K objevu *P. brassicae* přispěla v roce 1872 v Rusku silná epidemie. Do Evropy, Austrálie, Severní a Jižní Ameriky se nejspíše dostala přistěhovalci a kolonizací nových míst prvními osadníky. Patogen se tak rozšířil na všechny kontinenty (kromě Antarktidy), díky zamořeným potravinám a krmivům, na kterých ulpěla kontaminovaná zemina. Je tedy velká pravděpodobnost, že se patogen vyskytuje po celém světě tam, kde se pěstují brukvovité plodiny nebo je brukvovitá vegetace. Oblasti s vysokou populační hustotou patogena, jsou především vlhké oblasti mírného pásu (Struck et al. 2022).

V České republice je *Plasmodiophora* problémem a výzvou především v severní části Moravy a Čech. Obzvláště Moravskoslezský kraj patří dlouhodobě k nejvíce zamořeným oblastem. Patogen se stále šíří do dalších regionů a je již prakticky po celé republice, proto jeho význam roste (Řičařová et al. 2016; 2017)

Ve světě je plasmodioforová nádorovitost brukvovitých rozšířena po všech kontinentech, kromě Antarktidy. Výskyt je hlášen ve více než 80 zemích světa. V Kanadě byl historicky největší problém s *P. brassicae* u brukvovité zeleniny. V provincii Alberta, je dlouhodobý problém se zamořenými pozemky patogenem již od roku 2003, ale i oblasti Britské Kolumbie, Ontaria a Quebecu mají dost zamořené pozemky, kvůli produkci zeleniny. V Evropě zejména ve Francii, Německu, Polsku, Švédsku a Velké Británii (hlavně ve Skotsku a Walesu), jsou nadále zkoumány patotypy *P. brassicae* na zamořených pozemcích (Hwang et al. 2011; Bouma 2016; Řičařová et al. 2017; Javed et al. 2022; Zamani-Noor et al. 2022).

### 3.1.3 Ontogeneze

Životní cyklus *P. brassicae* (znázorněn na obrázku č. 1), je poměrně složitý a obvykle se dělí na dvě hlavní fáze, primární infekce v kořenovém vlášení a sekundární infekce v pletivech kůry, pak je ještě klidová fáze v půdě. Existují rozpory ohledně tohoto rozdělení životního cyklu a také neznámé skutečnosti ohledně detailů infekce, které nebyly dosud vyzkoumány (Liu et al. 2020).



Obrázek 1 Životní cyklus *Plasmodiophora brassicae*: a – odpočívající spora; b – primární zoospora; c – primární plasmodium v kořenovém vlásku; d – shluk zoosporangií v kořenovém vlásku; e – prázne zoosporangium; f,g – sekundární plasmodium v kortikálních buňkách; trvalé spory v kortikálních buňkách (Kageyama a Asano 2009).

### 3.1.3.1 Půda, trvalé spory, klíčení

Životní cyklus *P. brassicae* začíná v půdě, kde odpočívají trvalé spory, které se do půdy dostávají díky rozpadu kořenových nádorů. Velikost jedné spory se uvádí kolem 3  $\mu\text{m}$ . Povrch klidové spory je pokryt ostny (Ikegami et al. 1978).

Nejvíce trvalých spor (přes 90 %), se nachází v povrchové půdě (0 – 5 cm). Určitý počet trvalých spor však může být až v hloubce 40 cm, s tím že populační hustota klesá s rostoucí hloubkou. Patogen je na zároveň rovnoměrně rozprostřen a neshlukuje se u rostlin (ChoongHoe et al. 2000).

Odpočívající spory *P. brassicae* mají velkou schopnost přežívat v půdě, uvádí se že přežijí i 5 let bez hostitelské rostliny (Kageyama a Asano 2009), některé zdroje však uvádí i 20 let (Bouma 2021). Poločas rozpadu trvalých spor ve studii (Wallenhammar 2010) byl stanoven na 3,6 let pro pole se 100% napadením. Bylo zjištěno, že úroveň napadení klesala až po 17,3 letech pod detekční úroveň (PCR).

První fází životního cyklu je klíčení spor, k tomu dojde však za určitých podmínek. První podmínkou uvolňování vápenatých iontů ( $\text{Ca}^{2+}$ ) z trvalých spor spouští jejich klíčení a zároveň je důležitá jejich zpětná adsorpce (Shogo et al. 1991). Dalším faktorem je i zralost spor (Macfarlane 1970) zjistil, že klidové spory ze starých rozpadajících se hálek mají zvýšenou (rychlejší) klíčivost než spory získané z mladých pevných hálek. Mladé výtrusy jsou pokryty vláknitým materiálem na rozdíl od zralých trvalých spor, které mají řadu ostnů. Zralé spory navíc klíčí bez ohledu na přítomnost  $\text{Ca}^{2+}$  na rozdíl od mladých. Zároveň se klíčení urychluje a podíl klíčících výtrusů se zvyšuje v přítomnosti rostlin rodu *Brassica* (Macfarlane 1970). Dalšími podmínkami pro vyklíčení trvalých spor jsou faktory prostředí, jimiž jsou pH, vlhkost, teplota, další anorganické ionty a biologické faktory (Takahashi 1994). Rozpad napadené tkáně se děje za pomoci sekundárních mikroorganismů (bakterie především), které ale nejsou nezbytné pro proces klíčení, ale připravují spory na efektivnější klíčení (Dixon 2009).

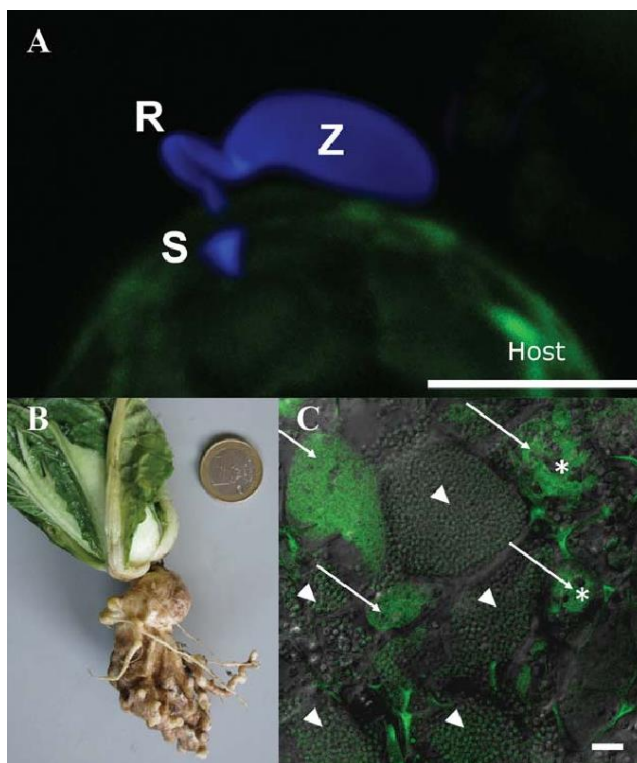
Experimentálně bylo mimo jiné prokázáno (Feng, J. et al. 2010), že gen kódující serinovou proteázu (PRO1), který je přítomen v širokém spektru patotypů *P. brassicae*, je důležitý pro klíčení klidových spor. Množství PRO1 kolísá v závislosti na fázi patogeneze. Optimální teplota PRO1 je 25 °C a vykazuje zároveň vysokou aktivitu při hodnotách pH 6,0 – 6,4. Tyto hodnoty se shodují s teplotními a pH podmínkami příznivými pro klíčení klidových spor *P. brassicae* na poli. Protein PRO1 zesiluje stimulační účinek kořenových exudátů, prostřednictvím své proteolytické aktivity, na klíčení klidových spor (Hwang et al. 2011).

Trvalé spory podle výše zmíněných podmínek tedy vyklíčí ve dvoubičíkaté zoospory. Zoospory přežívají pouze krátkou dobu a jsou přitahovány látkami obsaženými v kořenech rostlin. Aktivním pohybem se vodním filmem dostanou ke kořenovému vlášení (Rod 1993; Kageyama a Asano 2009).

### 3.1.3.2 Primární infekce

Do kořenového vlášení se dvoubičíkaté zoospory dostanou ve formě myxoaméb (Rod 1993). Jakmile se primární zoospora přichytí ke stěně kořenového vlášení, bičíky se svinou a axonemy se zatáhnou. Během 2 hodin se utvoří trubicovitá cysta (tzv. Rohr – R) ve které se dále utvoří bodec (tzv. Stachel – S), jak je vidět na obrázku č. 2. V důsledku tlaku expandující

vakuoly se vytvoří adhesorium. Stachel následně prorazí hostitelskou buněčnou stěnu a během 1 s se patogen injektuje do hostitelské buňky. Zahájení primární infekce je tedy zprostředkováno adhesoriem zoospory, které propíchnou buněčnou stěnu kořenového vlasu a vpraví svůj obsah do cytoplazmy hostitelské buňky. Celková doba potřebná k vytvoření adhesoria a proniknutí do hostitele je asi 1 min. Bylo zjištěno, že sekundární zoospory jsou schopny provádět podobný proces penetrace (Aist a Williams 1971).



Obrázek 2 Nádorovky (*Phytomyxa*). A – (5 µm) infekce hostitele pomocí ‘Rohr (R) a Stachel (S)’, zoospora (Z). B – příznaky nádorovitosti na čínském zelí. C – (20 µm) odpočívající spory *P. brassicae* (▲), plazmodia (→) a typické vakuoly, které mizí, když se plazmodia začnou diferencovat do odpočívajících spor (\*) (Schwelm et al. 2017).

Po vniknutí do rostlinné buňky se na místě průniku mezi stěnou hostitele a plazmatickou membránou brzy utvoří papila bohatá na kalózu. Mladé améby v kořenových vláscích nemají lipidová tělíčka, jsou obaleny sedmivrstevnými obaly (Aist a Williams 1971).

*P. brassicae* může iniciovat primární infekci, jak v kořenovém vlášení, tak v epidermálních buňkách, kde se 1 den po inokulaci vytvoří nejaderné primární plasmodium, někdy má jen omezený počet jader. Postupně se vyvine ve vícejaderné plasmodium a následně prochází kondenzací a štěpením cytoplazmy na jednojaderná zoosporangia od 1 do 4 dnů po inokulaci. Pak následuje tvorba vícejaderných zoosporangií, ve kterých se utvoří sekundární zoospory (Liu et al. 2020).

Sekundární zoospory po svém uvolnění provádějí konjugaci v epidermálních buňkách kořene (Liu et al. 2020). Sekundární zoospory uvolněné ze zoosporangií v kořenových vlasech znovu infikují kořenové vlásy a epidermální buňky, patogen tak prolifерuje v krátkém cyklu a tím se zvyšuje sekundární infekce kořenové kůry (Naiki et al. 1984).

### 3.1.3.3 Sekundární infekce

Fáze infekce kořenové kůry je vyvolána sekundárními zoospory uvolněných ze zoosporangií v kořenových vlasech. Primární zoospory neinfikují pletiva kůry (Dobson a Gabrielson 1983). Není však zcela objasněné, zda jsou zoospory uvolňovány do půdy nebo se pohybují uvnitř kořenového vlasu, či se děje obojí (Kageyama a Asano 2009).

V primárních plasmodiích dochází synchronně k řadě jaderných dělení, po nichž následuje štěpení na zoosporangia. Z vícejaderného zoosporangia vznikají jednojaderné sekundární zoospory, které se uvolňují do lumenu kořenových vlásků či epidermálních buněk. Zde následně konjugací dvou jednojaderných haploidních sekundárních zoospor vznikne diploidní jednojaderná zygota (Javed et al. 2022). V každém zoosporangiu se vytvoří 4 – 16 sekundárních zoospor, které se uvolňují do půdy. Sekundární zoospory pronikají do korových tkání hlavních kořenů (Kageyama a Asano 2009).

Zygoty vnikají znovu do kořenů pomocí specializovaných vláken přes buněčné stěny nebo rankami. Uvnitř napadených buněk kořenů ztrácí bičíky a diferencují se v sekundární jednojaderná plazmodia 8 dní po inokulaci, tímto začíná sekundární infekce. Následně se vyvíjí v dvoujaderná, čtyřjaderná a vícejaderná sekundární plasmodia od 10 po 15 den po inokulaci, během těchto dnů se už objevují typické příznaky (Rod 1996; Liu et al. 2020; Javed et al. 2022).

Plasmodia, pronikají do dalších buněk vodivými pletivy. Plasmodia produkují fytohormony (auxiny a cytokininy) a zároveň tvorbu těchto hormonů v hostiteli indukují. Dochází tak k hyperplazii a hypertrofii. Buňky jsou 5 – 10x větší, jádra jsou až 30x zvětšená a zvyšuje si obsah DNA (16x). Dochází k tvorbě nádorů. V postižených buňkách dochází ke zvýšené aktivitě nitrolázy a katalázy a zvyšuje se tvorba proteinů. Klesá však obsah redukujících cukrů a sušiny (Rod 1996).

Haploidní jednojaderné odpočívající spory v buňkách hlavního kořene se objeví až 24 dnů po inokulaci, utvoří se meiózou při zmenšování jádra sekundárních plasmodií. Následuje jejich uvolnění do půdy a tím se ukončí životní cyklus *P. brassicae* (Javed et al. 2022; Liu et al. 2020).

Není shoda ohledně pohlavní fáze u *P. brassicae*, je však naznačeno, že by k ní mohlo docházet během konjugace sekundárních zoospor při tvorbě trvalých spor (Javed et al. 2022).

### 3.1.4 Metody diagnostiky a patotypování

Patogen je velmi variabilní a často se vyskytuje jako tzv. směs patotypů v půdě a i v kořenech (v jednom nádoru). Izoláty se liší preferencí i agresivitou vůči různým hostitelům, převážně z čeledi brukvovitých (Saharan et al. 2021c; Javed et al. 2022).

Nejvíce používané metody k detekci (tabulka č. 1) a rozlišení patotypů, jsou:

- cpn60 universal target (cpn60UT) k vytvoření dropletového digitálního PCR (ddPCR) a amplifikace DNA pomocí izotermické smyčky (LAMP), což se ukazuje jako vhodná metoda ke studii distribuce patogena v zamořených polích a k rozlišení patotypů, viz tabulka č. 1.
- Další metodou je tzv. RNase H – dependent PCR, která amplifikuje rDNA nebo fragmenty z genomu jedinečné pro různé patotypy identifikované pomocí srovnávací genomiky.

- Viditelné infračervené hyperspektrální snímání (HSI – HyperSpectral Imaging) společně s CNN (Convolutional Neural Network), který detekuje fyziologické abnormality rostlin způsobené *P. brassicae*. Tato metoda má však spoustu nevýhod, jednou z nich je že rostliny musí být již napadené (Gossen et al. 2019; Feng et al. 2022; Javed et al. 2022; Tso et al. 2022).

Tabulka 1 Metody detekce vyvinuté ke studiu patogena *Plasmodiophora brassicae* (Javed et al. 2022).

Metoda	Použití
PCR	Detekce <i>P. brassicae</i> , diferenciací patotypů <i>P. brassicae</i> na základě virulence nebo geografického rozšíření.
qPCR	Studium distribuce <i>P. brassicae</i> a kvantifikace počtu spor v poli.
ddPCR	Kvantifikace <i>P. brassicae</i> a studium dynamiky patogena v poli.
rhPCR	Studium polymorfismu populace <i>P. brassicae</i> a diferenciací patotypů nádorovitosti košťálovin s rozdílnou virulencí.
LAMP	Rychlá a citlivá detekce <i>P. brassicae</i> .
HSI + CNN	Detekce nádorovitosti košťálovin bez zničení infikovaných rostlin.

Patotypování obligátního patogena *P. brassicae* je založeno na virulenci na různé hostitele, je klasifikováno do patotypů a ras. Bylo vyvinuto pět hlavních systémů patotypování. V současnosti je v Kanadě identifikovaných 36 patotypů na 13 hostitelích. Dříve byly využívány tři systémy pro patotypování, díky šlechtění se na počátku století začaly na trhu objevovat nové rezistentní odrůdy řepky. Díky komerčnímu tlaku na vznik nových rezistentních odrůd byly geny rezistence překonány novými virulentními patotypy, což vedlo k zavedení nových diferenciacních systémů. Jeden z prvních systémů pro patotypování se nazýval Williamsova diferenciacní sada nádorovitosti košťálovin (P. H. Williams 1966), dalším je Evropská diferenciacní sada nádorovitosti košťálovin (ECD) (Buczacki et al. 1975), dále Somého diferenciacní sada nádorovitosti košťálovin (Somé, A. et al. 1996). Nový zavedený systém Kanadská diferenciacní sada nádorovitosti košťálovin (CDD) (Strelkov et al. 2018). Nejnovějším systémem je Sinitická diferenciacní sada nádorovitosti košťálovin (SCD) (Pang et al. 2020; Javed et al. 2022).

Pro rychlou identifikaci a detekci patotypů, byly vyvinuty molekulární markery. Gen CR 811 byl identifikován v patotypu 3 a 5 a hraje důležitou roli v rezistenci hostitele a patogenitě *P. brassicae*. Diferenciacní sady, které byly dosud vyvíjeny a používány, mají několik omezení při detekci a identifikaci nových patotypů. Sady se skládají z geneticky heterogenních druhů čeledi Brassicaceae a to je v rozporu se standardními mezinárodními diferenciacními hostitelskými systémy. Samotné izoláty jsou složeny z geneticky heterogenních populací patogena. Označení a pojmenování patotypů má také svá omezení, například Williamsova sada používá sériové číslo (př. patotyp 4), ECD (např. ECD16/15/31), SCD (např. Pb4), což omezuje porovnání, analýzu a detekci nových patotypů. Navíc podle tohoto systému jsou pak následně hlášeny podobné patotypy v jiných zemích. (Pang et al. 2020; Saharan et al. 2021b; Zeng et al. 2023)



### 3.1.4.1 Vznik nových virulentních patotypů

Vysoký stupeň variability patogena v polních populacích poukazuje na pohlavní rekombinaci. Díky kontroverzi ohledně případné sexuální fáze *P. brassicae*, se tato etapa nedá zahrnout do životního cyklu patogena. Jsou různé hypotézy ohledně plazmogamie a karyogamie. Jedna z nich usuzuje, že sexuální stádium patogena probíhá v multinukleárním sekundárním plazmodiu, kdy se jádra objevují v párech a fúzí s následným meiotickým dělením a dělením cytoplazmy, za vzniku haploidních odpočívajících spor (Ingram et al. 1997; Liu et al. 2020; Saharan et al. 2021c).

Genom *P. brassicae* je kompaktní a malé velikosti (24,2 – 25,5 Mb), má vysokou hustotu genů a málo opakování. Vzácnost opakování genů odlišuje *P. brassicae* od ostatních biotrofních patogenů jako jsou rzi, padlí (Fungi) a oomycota *Hyaloperonospora arabidopsidis*. V genomu zároveň dochází k redukci a překrývání intergenových vzdáleností (Rolfe et al. 2016; Saharan et al. 2021c).

Jedním typem obrany proti nádorovitosti brukvovitých je výsadba rezistentních odrůd. Ovšem krátkodobé střídání rezistentních odrůd, vede ke vzniku virulentnějších patotypů. Jde tedy o souboj mezi obrannými molekulárními mechanizmy hostitele a generováním efektorů patogena, které využívají k překonání rezistence (Galindo-González et al. 2021).

### 3.1.4.2 Efektory patogena

Efektové proteiny hrají klíčovou roli pro virulenci patogena. U náchylných hostitelských rostlin z čeledi brukvovitých indukují *Plasmodiophora brassicae* tvorbu živných kořenových hálek při sekundární infekci. Zvýšený růst kořenů z důvodu zvětšujících se plazmodií poskytuje zásobárnu živin, které patogen využívá. Pravděpodobně většina molekulárních interakcí mezi hostitelem a patogenem probíhá právě v této fázi. Tato fáze se proto stává významnou pro sekreci efektorů a patogenezí (Galindo-González et al. 2021; Pérez-López et al. 2021).

Efektory mají za cíl potlačit imunitní reakci rostlin a získávat živiny potřebné k zajištění přežití, zároveň efektory napomáhají kolonizaci rostlinného hostitele. Efektory patogena napomáhají procesu infekce buď přímým ovlivněním imunitní odpovědi hostitele, nebo změnou reakcí rostlin ve svůj prospěch. Původně byly efektory patogenů definovány jako malé, na cystein bohaté proteiny s úlohou v manipulaci s imunitními reakcemi rostlin, byly však popsány i další molekuly, jako jsou malé RNA nebo sekundární metabolity, které vykonávají typické efektorové funkce (Galindo-González et al. 2021; Javed et al. 2022).

Efektory jsou obvykle vylučované proteiny patogena, které poté působí buď v apoplastu hostitele, nebo vstupují do rostlinných buněk, kde interagují s různými buněčnými složkami a způsobují onemocnění nebo se vážou receptory (R-gen) nebo mediátorové proteiny spojené s R-proteiny, které spouštějí imunitu. Efektory mohou mít různé funkce, včetně ochrany patogena nebo jiných efektorů, renaturace efektorů, které byly poškozeny oxidativními formami kyslíku hostitele, interference a / nebo manipulace s expresí genů a metabolismem hostitele, manipulace vezikulárního toku nebo inhibují PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) (Pérez-López et al. 2020; Galindo-González et al. 2021).

Jedním z příkladů je efektorový protein PbBSMT, který přeměňuje obrannou sloučeninu kyselinu salicylovou (SA) na její metylester (Me-SA), pomocí homologu k rostlinným metyltransferázám (SABATH). Je to jeden z nejvíce exprimovaných genů *P. brassicae* (v plazmodiálním stádiu) v infikovaných kořenových pletivech. Rostliny s vyšším obsahem Me-SA jsou náchylnější k dalším patogenům (viz kapitola: 4.1.5) (Ludwig-Müller et al. 2015; Rolfe et al. 2016; Djavaheeri et al. 2019).

Dalším příkladem efektoru *P. brassicae* je například inhibitor cysteinových proteáz SSPbP53, který hraje roli v umožnění progresu rozvoje choroby nádorovitosti brukvovitých (Pérez-López et al. 2021).

### 3.1.5 Změny ve společenství endofytních hub při napadení *P. brassicae*

V rostlinách žijí různé endofytní houby, které ovlivňují abiotické i biotické stresy, tím pádem i choroby. Podle studie (Tian et al. 2019) se pomocí vysoce výkonného sekvenování (ITS) a dalších metod došlo k závěrům, že v neinfikovaných kořenech byla mnohem vyšší diverzita společenstva endofytů než u napadených. Dominantní skupinou endofytů byla Ascomycota (*Phoma* sp., *Mortierella* sp., *Penicillium* sp. atd.) ve zdravých kořenech. Naopak v případě nádorových kořenů byl dominantním taxonem *Plasmodiophora brassicae* a dále bylo izolováno mnoho druhů fytopatogenních fusarií. Lze říci že infekce způsobená *P. brassicae* mění společenstvo houbových endofytů a usnadňuje vstup půdních patogenů dovnitř kořenů hostitele (Tian et al. 2019).

## 3.2 Čeleď brukvovité (Brassicaceae)

Aktuální taxonomické zařazení dle NCBI: buněčné organismy; Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Streptophytina; Embryophyta; Tracheophyta; Euphyllophyta; Spermatophyta; Magnoliopsida; Mesangiospermae; eudicotyledons; Gunneridae; Pentapetales; rosids; malvids; Brassicales; Brassicaceae (Schoch et al. 2020).

Brukvovité (Brassicaceae), patří do vyšších dvouděložných rostlin z řádu brukvotvarých (Brassicales). Rostliny z této čeledě jsou snadno rozpoznatelné díky unikátním květům se čtyřmi okvětními lístky, tvořícími kříž. Odtud se vzal alternativní název čeledě křížaté (Cruciferae). Zahrnují jednoleté, dvouleté i bylinné trvalky a vzácně keře. Celkový počet rodů je 338 – 360 a druhů téměř 3709. Čeleď zahrnuje mnoho jedlých druhů, jako krmiva, olejnaté plodiny, zeleninu a koření. V Brassicaceae existuje mnoho rostlin s velkým ekonomickým, agronomickým, vědeckým a léčebným významem. Navíc jsou různé druhy Brassicaceae zkoumány pro svůj farmakologický potenciál, díky specifickým sekundárním metabolitům. Sekundární metabolity se nazývají glukosinoláty a spolu s enzymem myrosinázou v idioblastech jsou příznačné pro tuto čeleď. Při porušení pletiv se tyto dvě látky setkají a uvolní se glukóza a hořčičné silice, pro které je charakteristická ostrá dráždivá až pálivá chuť a štiplavá vůně (Novák a Skalický 2017). Tato čeleď je klíčová pro vitamíny A, B1–2, B6, C (zejména v listech), E, K a minerály, jako jsou hořčík, železo a vápník (Anjum et al. 2012; Novák a Skalický 2017; Raza et al. 2020).

Květní vzorec:  $\varnothing * K 2+2 C 4 A 2+4 G (2)$ . Květy tvoří hrozny, na květním lůžku jsou nektaria (medonosné rostliny). Květ je dále tvořen šesti tyčinkami, přičemž dvě jsou kratší než vnitřní čtyři. Plod je šešule s dvěma chlopněmi, kterými puká ze zdola nahoru, uvnitř jsou semena s nepravou blanitou přehrádkou. Semena obsahují olej a v různých koncentracích také nenasyčené mastné kyseliny, zejména erukovou a brassikovou kyselinu (Novák a Skalický 2017).

### 3.2.1 Pěstování brukvovitých plodin v České republice a ve světě

Řepka ozimá je v České republice po obilninách nejpěstovanější plodinou. Její produkce je v dnešní době spojena s vysokou intenzitou agrotechnických zásahů. V roce 2023 byla osevní plocha řepky 379 944 ha, z toho 379 632 ha tvořila řepka ozimá. Hořčice na semeno byla na 15 621 ha zemědělské půdy. Košťálová zelenina zabírala 1 511 ha osevní plochy, z toho zelí tvořilo 268 ha roce 2023 byla osevní plocha řepky 379 944 ha, z toho 379 632 ha tvořila řepka ozimá. Košťálová zelenina zabírala 1 511 ha osevní plochy, z toho zelí tvořilo 268 ha (Jonáš Hnátek et al. 2019; Český statistický úřad)

Dle (USDA 2024) největšími producenty řepky ozimé ve světě jsou Kanada, Indie a také Čína, Austrálie a Rusko. Data za rok 2022 z udávají, že v Kanadě zabírala osevní plocha řepky 8,95 milionů hektarů a v Indii 7,99 milionů ha. Předběžná data a predikce, ale ukazují, že Indie bude větším pěstitelem řepky než Kanada. Z Evropské Unie dominují státy jako je Francie (1,23 milionů ha za rok 2022), Německo (1,09 mil. ha v roce 2022) a Polsko (1,08 mil. ha za rok 2022) v osevní ploše řepky (FAO 2024).

Čína v roce 2022 měla nejvíce hektarů zelí, brokolice a květáku, potom Indie a Spojené státy americké (FAO 2024).

### 3.2.2 Brukvovité plevele

Hubením výdrolu a plevelů z čeledě brukvovitých, lze předcházet napadení *Plasmodiophorou brassicae*. Kvůli dlouho přetrvávajícím sporám v půdě, potlačení plevelů docílíme toho, že počet trvalých spor, alespoň snížíme. Hlavními plevely jsou: výdrol řepky, hořčice polní, kokoška pastuší tobolka, penízecká rolní, úhorník mnohodomý, rukev obecná aj. (Donald a Porter 2009; Jursík et al. 2018; Struck et al. 2022).

Hořčice polní je jarní plevelný druh, má kořen zasahující až do podzemní části. Vyskytuje se v nížinách až po teplejší oblasti podhůří. Dává přednost úrodnějším, vlhčím, na živiny bohatším půdám, především s vyšším pH. Reguluje se hlavně v obilninách, kukuřici, cukrové řepě a bramborách (Jursík et al. 2018).

Kokoška pastuší tobolka je jednoletý ozimý plevel s větveným kořenem a mnoha postranními. Je indiferentní na klimatické a půdní podmínky, dokáže se i velmi dobře přizpůsobit jakékoliv agrotechnice. Reguluje se v obilninách, řepce, kukuřici a cukrové řepě (Ren et al. 2016; Jursík et al. 2018).

Penízecká rolní je jednoletý ozimý druh, má dlouhý kulový kořen s postranními větvemi. V ČR se vyskytuje hojně od nížin až po horní hranici pěstovaných plodin, ale často jen přechodně se vyskytuje ve vyšších oblastech. Upřednostňuje úrodné, humózní a na živiny

bohaté půdy. Preferuje zároveň vlhčí půdy, s nižším pH. Reguluje se v obilninách, řepce, kukuřici, cukrové řepě a bramborách (Jursík et al. 2018).

Úhorník mnohodišný je jednoletý ozimý plevel, vytváří vřetenovitý kořen s tenčími bočními kořeny. Je rozšířen hlavně v teplejších oblastech ČR. Preferuje vysychavé, na živiny bohaté půdy, k pH půdy nemá specifické požadavky. Roste hojně i na synantropních stanovištích (rumišťe, železniční násypy apod.). Regulován je v obilninách a ozimé řepce (Ren et al. 2016; Jursík et al. 2018).

Rukev obecná je vytrvalý druh, mělčeji kořenící s mnoha vodivými výběžky. U nás téměř na celém území. Je to primárně pobřežní rostlina a preferuje vlhčí lokality, ale jako plevel ji, sice v menším zastoupení, najdeme i v sušších oblastech. Hlavní výskyt na regozemích, což jsou lehké písčité půdy (půda drnová). Často se zde pěstuje zelenina a brambory (dostatek závlahy), reguluje se také v obilninách (Jursík et al. 2018).

### 3.3 Výživa a hnojení hlavních brukvovitých plodin

#### 3.3.1 Košťálová zelenina

Patří k nejrozšířenějším zeleninám, ale také k nejnáročnějším plodinám na živiny. Z půdy si berou převážně dusík, draslík a vápník. Brukvovitá zelenina je označována jako nitrofilní, to znamená, že upřednostňuje nitrátovou formu dusík. Při dobrých výnosech obzvláště zelí, kapusty, květáku a nových odrůd brokolice je celkový odběr N a K přes 200 kg/ha. Pokud jsou plodiny často pěstovány na pozemku, musí být zvýšené hnojení draslíkem. Kedlubny mají nižší odběr, ale zároveň i kratší vegetační dobu po kterou vyžadují také dostatek živin, aby nedřevnatěli nesmí být nedostatek dusíku a vody (Vaněk et al. 2012; Poláková et al. 2019).

Odběr živin během vegetace koreluje s tvorbou biomasy. V začátku vegetace je vysoká potřeba N a v druhé polovině se zvyšuje příjem K, zatímco příjem Ca a P je téměř rovnoměrný během vegetace. V případě zeleniny s květní růžicí je rozdíl ve vyšším příjmu K nad N po celou vegetaci. Je zde i určitá prodleva příjmu živin, když se začne tvořit květní růžice. Dusík je pro pěstování košťálové zeleniny klíčovým makroprvkem, kvůli nárůstu biomasy (předpoklad dobrého výnosu a kvality). Pro dodání dusíku pomocí minerálních hnojiv, je nutné stanovit podle celkové potřeby. Nutné je proto stanovit konkrétní obsah  $N_{\min}$  v ornici a použít odpočty skutečného obsahu. Hnojí se hlavně před výsadbou či setím, nebo také na počátku vegetace, aby se podpořila tvorba listové plochy. K základnímu hnojení jsou vhodné síran amonný, močovina, DAM nebo dusíkaté vápno. Dusíkaté vápno má dobrý efekt díky pozvolnému uvolnění N a alkalické působení Ca. Významně to ovlivňuje výskyt nádorovitosti košťálovin (Vaněk et al. 2012; Poláková et al. 2019).

Při přehnojení dusíkem je podpořen výskyt houbových chorob, horší skladovatelnost a i chuť. U zelí, které je určeno ke konzervaci kvašením má negativní vliv přehnojení při procesu kvašení, kdy se mění poměr dusíkatých látek a cukrů. Nadbytek N u kedluben podporuje kumulaci nitrátů (nežádoucí), naopak nedostatek dusíku v případě kedluben, způsobuje jejich dřevnatění. Draslík u brukvovité zeleniny zlepšuje skladovatelnost a obsah cukrů, podporuje zdravotní stav a suchovzdornost (Poláková et al. 2019).

Z mikronutrientů jsou důležité zmínit bór a molybden. Při nedostatku bóru dochází k zhnědnutí růžic kvěťáku a při absenci molybdenu k vyslepnutí růžice kvěťáku (Poláková et al. 2019).

Vliv výživy a hnojení košťálové zeleniny má vliv na výnos a kvalitu výnosu (obsah nitrátů, obsah a zastoupení jednotlivých glukosinolátů). Košťálová zelenina vyžaduje i síru v kombinaci s dusíkem, což se potvrdilo ve studii (Maršić et al. 2021), kdy nejvyššího ekonomického výnosu, výnosu sušiny a využití dusíku, bylo dosaženo při nejvyšší dávce dusíkatého hnojení v kombinaci se sírou. Zároveň u tohoto ošetření byl přebytek dusíku v půdě po sklizni nižší než při stejném hnojení dusíkem bez aplikace síry. Došli k závěru, že přidáním síry se výrazně zvyšuje využitelnost dusíku a projevuje se i snížením nitrátu v hlávkách zelí. Glukosinoláty byly v zastoupení 80 – 85 % alifatické a zbytek indolové GLS. Interakce mezi hnojením dusíkem a sírou u alifatických GLS se projevila zvýšením obsahu progoitrinu a glukoiiberinu, když byly při aplikaci síry nižší dávky dusíkatého hnojení. V případě indolové skupiny se hladiny glukobrassicinu a celé skupiny indolových GLS snižovaly při vyšších dávkách hnojení dusíkem, bez ohledu na hnojení sírou (Kayum et al. 2020; Maršić et al. 2021).

### 3.3.2 Polní plodiny

Do hlavních polních plodin z čeledi brukvovitých patří ozimá řepka a hořčice (Vaněk et al. 2016).

#### 3.3.2.1 Ozimá řepka

Řepka je jednou z půdu zlepšujících předplodin. Opouští půdu poměrně brzo a zanechává ji v dobrém stavu a s velkým množstvím posklizňových zbytků. Řepka má dobrou osvojovací schopnost pro živiny. Jakmile utvoří dostatečný kořenový bal, je schopna využívat i méně přístupné formy živiny, než jiné plodiny a uvádět je tak do koloběhu živin (Vaněk et al. 2016).

Ozimá řepka se svým odběrem živin patří k intenzivním plodinám. Největší příjem má dusíku a draslíku. Jejich odběr má obdobný trend, jako nárůst biomasy, tzn. intenzivní příjem při dlouhivém růstu (konec zimy a brzo na jaře). Příjem N mírně převyšuje příjem K. Ve druhé polovině vegetace (od fáze butonizace), je příjem N, K malý. Rostlina spíše redistribuuje tyto dvě živiny z listů a stonků do tvorby šesulí a semen. Převažuje však ve fázi butonizace příjem vápníku a hořčíku. Co se týče síry je její příjem koresponduje s příjmem dusíku, ale je pozvolnější a přetrvává až do fáze tvorby šesulí. Síra je elementární pro rostlinný metabolismus a zvyšuje obsah oleje. V případě fosforu, síry a hořčíku je příjem živin rovnoměrný a vrcholí v době kvetení, pak začíná stagnovat a odběr začíná klesat, neplatí to však pro fosfor. Podobně je to i u mikroprvků. Nejvíce rostlina odebírá mikroprvky v řadě: Mn > Fe > Zn > B > Cu. Měď, zinek, bor a mangan přijímá ve větším množství od fáze butonizace až do zralosti. Ve fázi tvorby šesulí je potřeba, aby rostlina měla dostatek fosforu, vápníku a síry (Richter et al. 2010; Vaněk et al. 2016).

Z předešlých údajů vyplývá, že řepka nejvíce živin přijme v období 8 týdnů. Proto je nutné zajistit dostatek přijatelného K, P a Mg hnojením ještě před výsevem. A během vegetace hlavně hnojit dusíkem a v čas, aby mohla rostlina utvořit dostatek nadzemní biomasy. Je také dobré aplikovat B, pro zlepšený příjem Ca, nejlépe před zasetím řepky. Celkové odběry živin

rostlin a jejich následná akumulace v biomase na hektar: 250 – 290 kg N, 250 – 290 kg K, 50 – 80 kg S, 42 – 48 kg P, 13 – 17 kg Mg (Vaněk et al. 2016; Řičařová et al. 2017)

### 3.3.3 Vliv výživy na původce nádorovitosti košťálovin

Hnojení dusíkem má vliv na rozvoj choroby způsobené patogenem *P. brassicae*. Hnojení nízkými dávkami dusíku vyvolává u některých genotypů řepky olejky výrazné snížení symptomů nádorovitosti, jak uvádí studie (Aigu et al. 2022). Jak bylo poznamenáno výše, když se aplikuje nižší dávka dusíku a dodá se síra, tak se zvýší obsah alifatických glukosinolátů, konkrétně množství progoitrinu a glukoiiberinu. Progoitrin je zároveň jeden z GLS při jehož vyšším obsahu vzniká méně symptomů při napadení *P. brassicae*. Souběžně, ale se zvýšenými dávkami dusíku se snižuje obsah indolových GLS, konkrétně glukobrasycinu. Rostlina s vyšším obsahem glukobrasycinu, je náchylnější na projevy symptomů a tvoření nádorů (Kayum et al. 2020; Maršić et al. 2021; Aigu et al. 2022).

Dalšími prvky, které spolu synergisticky působí proti napadení *P. brassicae* je bór a vápník. Při absenci bóru v jsou v půdě omezeny vápenaté ionty s funkcí regulace tvorby nádorů na kořenech rostlin. B a Ca spolu v ovlivňují patogena a to především zoospory v obou fázích infekčního cyklu. Ve fázi primární infekce, díky toxicitě obou prvků nedochází k proniknutí zoospor do kořenových vlásků. Ve fázi sekundární infekce, tyto dvě živiny zpomalují dozrávání sporangii *P. brassicae*. Navíc bór přispívá imunitnímu systému rostliny (Řičařová et al. 2017; Tripathi et al. 2022).

Dusíkaté vápno má dobrý efekt díky pozvolnému uvolnění N a alkalické působení Ca. Významně to ovlivňuje výskyt nádorovitosti košťálovin. Rozklad dusíkatého vápna je víceúrovňový. První vzniká díky půdní vlhkosti kyanamid, který je toxický jak pro patogena tak pro rostliny. Poté vzniká amoniak a močovina, které jsou nitrifikovány a amonizovány. Tyto produkty degradace snižují životaschopnost trvalých spor a mění makrobiotickou rovnováhu (podpora antagonistů *P. brassicae*). Aplikace dusíkatého vápna má větší význam na malých plochách, v případě ochrany zeleniny. Aplikace na velká pole oseté ozimou řepkou je ekonomicky náročná. (Vaněk et al. 2012; Dixon 2017; Řičařová et al. 2017).

## 3.4 Ochrana před nádorovitostí košťálovin

Tím, že v posledních letech se zvýšila intenzita pěstování řepky olejné, jako širokořádkové plodiny, a zvýšila se i intenzita produkce zeleniny, zvýšila se tím i závažnost výskytu nádorovitosti brukvovitých. Dříve se proti nádorovitosti doporučovaly i nejrůznější chemické přípravky, ale jejich účinnost na zamořené půdě nebyla dostatečná. Musíme brát totiž v potaz, že na průměrně zamořené půdě jsou milióny trvalých spor v 1 g půdy a že k napadení rostlin za optimálních podmínek stačí jen jedna spora v 10 g půdy. Proto každé ošetření zanechalo vždy dostatek infekce schopných spor. Kromě preventivních fytosanitárních opatření může mít úspěch hlavně komplexní ochrana. Čím více ochranných opatření je možné uskutečnit současně, tím lepší může být konečný efekt (Rod 1993; Donald a Porter 2009; Hwang et al. 2014).

V rámci integrované ochrany lze její výskyt snížit mnoha způsoby jako například: střídáním plodin a úhorem, posouváním termínu setí, aplikací chemických látek a hubením

plevelů z čeledi brukvovitých, lapacími rostlinami nebo návnadovými plodinami, pěstovanými rezistentními odrůdami určitých plodin, předpověďmi výskytu choroby, doplněním určitých živin (např. Ca, B) do půdy a upravení pH, zmiňuje se i aplikace fungicidů a dezinfekce zemědělských zařízení (Donald a Porter 2009; Hwang et al. 2014).

Nejlepšími postupy pro regulaci jsou dlouhá období v rámci střídání plodin (odpočívající spory zůstávají infekční po desetiletí), také vápnění (dusíkaté vápno), nebo pěstování tolerantních či rezistentních plodin rodu *Brassica* spp. Šlechtění na odolnost proti klíčním houbám je komplikované, protože existuje několik patotypů *P. brassicae*. Dobrou zprávou je, že i když jsou klidové spory dlouhověké, tak většina spor přežívá pouze 1 – 2 roky, proto je standartním doporučením pěstovat plodiny s rozestupem 2 roky, kdy na poli nebyla jiná hostitelská rostlina. (Schwelm et al. 2017; Rod 1993; Dalton 2016; Hwang et al. 2019).

Je také nutné podotknout, že *P. brassicae* se může šířit i pomocí trvalých spor, které ulpí na prachových částech zeminy, které jsou pak roznášeny větrem, jak naznačuje studie (Rennie et al. 2015).

Také zpracování půdy má vliv na trvalé spory *P. brassicae*. Odpočívající spory jsou vysoce citlivé na UV záření a proto pokud se spory vynesou na povrch půdy, kde jsou vystaveny slunečnímu záření, může se podpořit boj proti nim (Zahr et al. 2021; Struck et al. 2022).

### 3.4.1 Osevní postup

Se zvyšující se pěstební plochou řepky se snižuje střídání plodin, což vede k větším problémům s *P. brassicae*. Více než dvouletá přestávka mezi pěstováním brukvovitých plodin může snížit silný výskyt patogena. Ve studii (Yang et al. 2020) byly pozorované předcházející plodiny před řepkou olejnou. Výsledky poukázaly na 50 resp. 40% snížení míry výskytu a indexu napadení chorobou nádorovitost brukvovitých, pokud byla před řepkou zařazená sója. Ve studii dále sledovaly mikrobiální společenstvo, které se měnilo v závislosti na předešlých plodinách. V případě sóji před řepkou olejnou se významně zvýšila populační hustota mikrobů, kteří mohou inhibovat *P. brassicae* (např. *Sphingomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces* a *Trichoderma*). Naopak při pěstování brukvovitých plodin za sebou se namnožili rostlinní patogeni (včetně *P. brassicae*, *Oplidium* a *Colletotrichum*) (Yang et al. 2020; Struck et al. 2022).

### 3.4.2 Prevence šíření

#### 3.4.2.1 Sanitace

Sanitace je proces čištění a dezinfekce nebo jiné dekontaminace povrchů (strojů, zařízení, vozidel, nástrojů, obuvi), osiva, rostlinných materiálů, vody a půdy zamořené patogenem. V rostlinné výrobě má tento postup za cíl zbavit se patogena, eliminovat riziko zavlečení nebo zpomalit jeho šíření. Proto by se hlavně stroje, vybavení, náradí a obuv měla očistit a vydezinfikovat před vstupem na nezamořené pole. (Hwang et al. 2014).

Proces sanitace zahrnuje tři kroky. Prvním krokem je hrubé čištění – seškrábání a čištění kartáči či ofoukání, za účelem odstranění zbytků půdy. Druhým krokem je tzv. jemné čištění, to se děje prostřednictvím podtlakového mytí vodou, nebo mytí pomocí kartáčů. Tyto dva kroky jsou klíčové, jelikož mohou odstranit až 99 % zamořenosti *P. brassicae*. Posledním krokem je

dezinfekce. Dezinfekci se nechává působit na očištěné povrchy, alespoň 20 min, aby zničila zbyvajících spory. Používá se například 1 – 2% roztok chlornanu sodného. (Hwang et al. 2014).

Tento proces je opomíjený, ale často je tím zapříčiněno šíření patogena. Jakmile se spory dostanou na pole, šíří se nejen brukvovitými plodinami, ale jako alternativní hostitelské rostliny slouží také již zmíněné brukvovité plevely, meziplodiny a samovolně rostoucí řepka. Rostliny mohou být pak kdykoliv napadeny a proto by měly být včas odstraněny (Struck et al. 2022).

### 3.4.2.2 Termín výsevu

Vývoji nádorovitosti brukvovitých prospívá vysoká půdní vlhkost a teploty kolem 25 °C. Proto manipulace s načasováním výsevu, může hrát roli, aby se infekce minimalizovala. Nízké teploty brání rozvoji patogena, zároveň starší rostliny jsou méně náchylné k infekci a i po případné infekci je méně ovlivněn výnos. Proto včasný termín může snížit intenzitu výskytu nádorovitosti košťálovin (Feng, J. et al. 2010; Hwang et al. 2014).

Pro podmínky u nás je posunutí termínu kvůli nižším teplotám půdy při výsevu ozimé řepky prakticky nemožné. Spíš zde rozhoduje množství srážek. Ideální podmínky v období setí pro infekci je při teplém počasí, které je doprovázeno bouřkovými lijáky. Chladné a vlhké počasí (konec srpna), kdy naprší méně, tak není tak vhodné pro podmínky infekce. Při dlouhém suchém období po zasetí, bez ohledu na teploty, k infekci prakticky nedochází i na pozemcích s velkým množstvím spor (Řičařová et al. 2017).

### 3.4.2.3 pH půdy

Důležitým faktorem pro rozvoj choroby je i půdní reakce (pH), protože nízká hodnota pH 5 – 7 v půdě podporuje klíčení spor a vede k silnějšímu napadení. Optimální pH se za normálních podmínek pohybuje u lehkých půd mezi 5,5 – 6, u středně těžkých v rozmezí 6 – 6,5 a v případě těžkých půd kolem 7. Se zvyšující se hodnotou pH, přibližně od 7,2, se ve většině případů nová infekce téměř neobjevuje. Na našem území byla však nádorovitost zjištěna na pozemcích s půdní reakcí v rozmezí pH 4,7 - 7,4 (Řičařová et al. 2017; Struck et al. 2022).

Půdy s alkalickou reakcí prokazatelně redukuje klíčivost spor a infekčnost zoospor. Zvýšení pH lze docílit aplikací vápna, a tak snížit dlouhověkost a životaschopnost odpočívajících spor, tím pádem i redukovat výskyt napadení rostlin *P. brassicae*. Vliv půdní reakce je ale patrný při nízké koncentraci vitálních spor v půdě, jinak pH nemá takový vliv. Důležitý je spíše obsah vápenatých iontů v půdě. Již zmíněné dusíkaté vápno je jedno z nejpoužívanějších syntetických hnojiv, které je již mnoho let spojováno se zmírněním výskytu nádorovitosti košťálovin (více probrané téma v rámci kapitoly: Vliv výživy na původce nádorovitosti košťálovin) (Hwang et al. 2014; Řičařová et al. 2017; Struck et al. 2022).

### 3.4.3 Lapací rostliny

Jednou z metod ochrany je použití tzv. lapacích rostlin. Infekce kořenového vlášení (primární infekce) je pozorována totiž i u nehostitelských rostlin, jako jsou jílek vytrvalý (*Lolium perenne*), rýt vonný (*Reseda odorata*), lichořeřišnice větší (*Tropaeolum majus*), ale zřejmě nevede k sekundární infekci, šlo by tedy využít těchto rostlin jako návnad, které trvalé spory vycytají. Ve studii (Friberg et al. 2005) uvádějí, že exudáty jílku vytrvalého stimulovaly



klíčení trvalých spor více než náchylný hostitel, kterým bylo pekingské zelí (*B. rapa* var. *pekinensis*) (Ludwig-Müller et al. 1999; Friberg et al. 2005; Hwang et al. 2015)

### 3.4.4 Fyzikální metody

Jednou z fyzikálních metod je propařování zeminy, to se provádí zejména v zelinářské produkci, ale je časově a finančně náročná, často dochází k rekontaminaci (Řičařová et al. 2017).

Další metodou je solarizace půdy. Půda je zakryta po dobu 3 – 4 týdnů transparentní fólií, zvyšuje se zde teplota. Využívá především v oblastech s velkou intenzitou slunečního záření, hlavně v Izraeli, Kalifornii a Austrálii (Donald a Porter 2009; Řičařová et al. 2017).

### 3.4.5 Chemická ochrana

Chemické přípravky jsou omezené, mají široké spektrum účinku, jsou škodlivé pro životní prostředí a rychle se stávají neúčinnými v důsledku vývoje rezistence patogenů. Chemická ochrana na likvidaci patogena v půdě se dá rozdělit na půdní fumiganty a půdní fungicidy. Aplikace přípravků je v polním měřítku technicky a ekonomicky náročná (Řičařová et al. 2017; Greer et al. 2023).

#### 3.4.5.1 Půdní fumiganty

Nejčastěji používaným půdními fumiganty jsou dithiokarbamáty metham sodium (sodium N-methyldithiocarbamate) a dazomet. Metham sodium je obsažen například v přípravku Vapam (používaný v USA a Kanadě). Dazomet je obsažen v přípravku Basamid, který je u nás registrován k ochraně proti hád'átkům, patogenním houbám a plevelům. Když se tyto přípravky dostanou do kontaktu s vlhkou půdou, přemění se na těkavé sloučeniny, které se šíří půdou a působí jako fungicid. Fumigační aktivita je závislá na vlhkosti a typu půdy. Nevýhodou používání fumigantů je, že způsobují lokální znečištění ovzduší (Donald a Porter 2014; Řičařová et al. 2017; Greer et al. 2023).

Další zatím testovaným fumigantem je ethanedinitril (EDN), v Austrálii má pro použití do půdy platnou registraci, v Evropské unii je zatím ve fázi registrace. Jeho použití je v ČR vázáno na povolení od ÚKZÚZ pro účely výzkumu, vývoje nebo omezení výskytu zvláště nebezpečných či invazivních patogenů a škůdců. Při testování proti *P. brassicae* bylo zjištěno potlačení choroby o 81,39 % ve srovnání s kontrolou ve skleníkových pokusech. EDN navíc zlepšil zdraví rostlin a zvýšil hmotnost nadzemní hmoty, negativně však bylo ovlivněno vzcházení sazenic při vyšších dávkách a delším období fumigace (Hňátek 2019; 2020; Patar et al. 2023).

#### 3.4.5.2 Půdní fungicidy

Je známo jen velmi málo chemických látek, které by trvale potlačovaly chorobu nádorovitosti u brukvovitých. Dříve byl velmi používaný a velmi účinný přípravek s účinnou látkou chlorid měďnatý (Calomel™). Byl však zakázán kvůli toxicitě rtuti a dlouhodobé perzistenci v životním prostředí. Nejvíce používanými fungicidy jsou benzimidazoly a jejich

prekurzory jak např. benomyl, který nejefektivněji inhibuje infekci sekundárními zoosporami (Peng et al. 2014; Greer et al. 2023).

Dalšími syntetickými fungicidy, které se zkoumají převážně v Kanadě, jsou například pentachloronitrobenzene (PCNB, přípravek Terraclor), fluzinam (přípravky Allegro a Omega) a cyazoflamid (přípravek Ranman, ten není ale registrován přímo na *P. brassicae*). Všechny přípravky vykazovaly účinnost, ale v silně infikovaných polích nefungoval žádný. Použití těchto přípravků ve velkém měřítku (na poli) je ekonomicky velmi nákladné, a navíc mají nežádoucí vliv na lidské zdraví a vysoká rezidua v půdě (Donald a Porter 2014; Hwang et al. 2014; Peng et al. 2014).

### 3.4.6 Biologická ochrana

Mikroorganismy běžně známými a využívanými biokontrolními vlastnostmi jsou *Trichoderma* spp. a *Bacillus* spp. V případě *Bacillus velezensis* (F85) a *amyloliquefaciens* (T113), bylo zjištěno, že se v nich nacházejí geny zodpovědné za biosyntézu antibiotik a antimikrobiálních peptidů. Dále *Bacillus subtilis* (XF-1) má v rhizosféře silné inhibiční účinky na přežívání klidových spor, pokud by se rostliny ošetřili v rané fázi dají se snížit škody způsobené *P. brassicae* (He et al. 2019; Zhu et al. 2020).

*Trichoderma* spp. může snížit obsah *P. brassicae* v kořenových buňkách a oddálit její vývoj. Navíc *Trichoderma harzianum* (LTR-2) upravuje (moduluje) mikrobiální společenstvo půdy a rhizosféry, například tím, že zvyšuje početnost rodu *Bacillus* a drasticky snižuje např. bakterie *Pseudomonas* (Li et al. 2020; Zhao et al. 2022).

V ČR je registrovaný přípravek Serenade ASO s biofungicidní složkou *Bacillus subtilis*. Do řepky ozimé a košťálové zeleniny je registrován pouze jako postřik (Peng et al. 2014; Registr přípravků na ochranu rostlin 2020). V registru hnojiv je např. pomocný rostlinný přípravek GLIOREX, který obsahuje krom jiného i konidie hub rodu *Clonostachys* a *Trichoderma* (Registr hnojiv 2020)

Existuje také endofyt *Acremonium alternatum*, který snižuje příznaky nádorovitosti brukvovitých (tvorba menších hálek) (Jäschke et al. 2010; Auer a Ludwig-Müller 2015)

### 3.4.7 Rezistentní odrůdy

Jediná reálná ochrana proti *Plasmodiophora brassicae* je volba rezistentních odrůd a správný oseední postup. Mechanismus rezistence je založen na potlačení vývoje patogena v rostlině než na zabránění infekce. Dochází zde k primární infekci a i sekundární, ale vzniklé sekundární plasmodium nedozrává a neutvoří se trvalé spory. Primární i sekundární infekce jsou výrazně potlačeny, nedochází také k silnému porušení buněčných stěn a není zastaveno druhotné tloustnutí stonku. Obráné reakce rostliny zahrnují aktivaci metabolických cest pro syntézu fytoalexinů, fenolických látek, ligninu apod., které zabraňují invazi patogena. Aktuálně jsou na evropském trhu k dispozici odrůdy řepky s rezistencí odvozenou od první rezistentní odrůdy Mendel (Řičařová et al. 2017).

## 3.5 Glukosinoláty

V kapitole vliv výživy na *Plasmodiophora brassicae* je zmíněn přínos glukosinolátů (GLS), které mohou být přirozenou obranyschopností hostitele na projevy choroby způsobené tímto patogenem. Jsou ale ovšem i některé glukosinoláty, které mohou naopak podpořit tvorbu nádorů, ale obecně se spíše pojednává o první variantě. Celý obraný mechanismus rostliny je provázán s různými dalšími metabolickými drahami, jednou z nich je například metabolismus auxinů (Siemens et al. 2002; Kayum et al. 2020; Maršić et al. 2021).

Glukosinoláty, také známe jako thioglukosidy, jsou významnými sekundárními metabolity mnoha dvouděložných rostlin, vyskytují se u jedenácti čeledí, ale především v čeledi brukvovitých (Brassicaceae). Tato hospodářsky významná čeleď zahrnuje plodiny členěné do olejin, zeleniny a pochutin. Glukosinoláty anebo jejich metabolity jsou známy pro své fungicidní, baktericidní, nematocidní a alelopatické vlastnosti (Fahey et al. 2001; Velíšek 2002b).

Thioglukosidy způsobují štiplavou chuť například v hořčici (*Sinapsis* spp.), ředkvích (*Rhapanus* spp.), křenu (*Armoracia* spp.) a v méně pikantní brukvovité zelenině (*Brassica* spp.), jako například v zelí, brokolici a kapustě. Pálivá chuť a charakteristická vůně je v důsledku přítomnosti isothiokanátů, tím hlavním je allylisothiokanát, který je výsledkem činnosti enzymu myrosinasy, při degradaci glukosinolátu sinirgiu (při porušení rostlinných pletiv) (Velíšek 2002a).

Glukosinoláty jsou konzumovány také v částech rostlin patřících do jiných čeledí. Příkladem jsou jedlé květy kapary a lichořeřišnice, nebo semena papáji a vybraná koření. V květech a plodech kapary je obsažen glukokapparin. V květech a převážně plodech lichořeřišnice jsou zastoupeny převážně benzylglukosinolát a glukotropaeolin. Semena papáji, která se pro svoji štiplavost používají jako náhrada pepře obsahují také glukotropaeolin jako lichořeřišnice (Velíšek 2002b; Kopec 2004).

Z hlediska výživy se glukosinoláty řadí mezi antinutriční faktory interferující s metabolismem jodu. Příjem glukosinolátů člověkem je hlavně při konzumaci brukvovité zeleniny obzvláště zelí, brokolice, květák a kedluben. Ve vegetativních částech rostlin se obsah glukosinolátů pohybuje mezi 100 až 2500 mg/kg a v semenech kolem 60000 mg/kg. V zelenině je přibližně 20 – 30 glukosinolátů, z čehož v rámci jedné rostliny je ve významném množství zastoupeno jen několik. Složení glukosinolátů v rostlině je pro každou odrůdu víceméně typické a je určeno především genetickými predispozicemi. Celkový obsah je ovšem ovlivněn různými vnějšími faktory, např. klimatické podmínky, napadení škůdci a patogeny apod. (Velíšek 2002b).

### 3.5.1 Chemická struktura glukosinolátů

Molekula glukosinolátu je tvořena prvky uhlíku, vodíku a kyslíku, také atomy síry a dusíku. Thioglukosidy jsou deriváty cyklických monosacharidů. Molekula se skládá z cukerné složky a aglykonu. Cukernou složku většinou tvoří  $\beta$ -D-glukosa, která může být esterifikována sinapovou či jinou karboxylovou kyselinou. Aglykon je anion sulfonového oxinu (C=N) v poloze trans k postrannímu řetězci (R) a cis k thioglykosidovému zbytku (Velíšek Jan, 2002).

Přehled nejvýznamnějších glukosinulátů je uveden v tabulce č. 2, podle postranního řetězce (R), rozlišujeme glukoinoláty:

- alifatické, alk(en)ylové (č. 1 – 6 v tabulce č. 2), případně alifatické substituované hydroxyskupinou (č. 7 – 9 v tabulce č. 2)
- sirné, které obsahují v postranním řetězci methylthioskupinu (č. 10 – 13 v tabulce č. 2), případně jejich oxidované formy (č. 14 – 19 v tabulce č. 2)
- aromatické s nesubstiovaným nebo substituovaným benzenovým jádrem (č. 20 – 26 v tabulce č. 2)
- Indolové se substituovaným indolem (č. 27 – 30 v tabulce č. 2).

Tabulka 2 Názvy a struktura substituentů nejrozšířenějších glukosinulátů (Velíšek 2002b).

č.	Triviální název	Substituent R
1	Glukokapparin	methyl
2	Sinigrin	prop-2-en-1-yl
3	Glukoputranjivin	isopropyl
4	Glukonapin	but-3-en-1-yl
5	Glukochlearin	sek-butyl
6	Glukobrassikanapin	pent-4-en-1-yl
7	Progoitrin	(2R)-2-hydroxybut-3-en-1-yl
8	Epiprogoitrin	(2S)-2-hydroxybut-3-en-1-yl
9	Glukonapoleiferin	2-hydroxypent-4-en-1-yl
10	Glukoibervirin	3-methylthiopropyl
11	Glukorafasatin	4-methylthiobut-3-en-1-yl
12	Glukoerucin	4-methylthibutyl
13	Glukoberteroin	5-methylthiopentyl
14	Glukoiberin	3-methylsulfinylpropyl
15	Glukorafenin	4-methylsulfinylbut-3-en-1-yl
16	Glukorafarin	4-methylsulfinylbutyl
17	Glukoalyssin	5-methylsulfinylpentyl
18	Glukocheirolin	3-methylsulfonylpropyl
19	Glukoerysolin	4-methylsulfonylbutyl
20	Glukotropeolin	Benzyl
21	Sinalbin	4-hydroxybenzyl
22	Glukolimnantin	3-methoxybenzyl
23	Glukoaubrietin	4-methoxybenzyl
24	Glukonasturtiin	2-fenylethyl
25	Glukobarbarin	(2R)-2-hydroxy-2-fenethyl
26	Glukosibarin	(2S)-2-hydroxy-2-fenethyl
27	Glukobrassicin	3-indolylmethyl
28	4-hydroxyglukobrassicin	4-hydroxy-3-indolylmethyl
29	Neoglukobrassicin	1-methoxy-3-indolylmethyl
30	4-methoxyglukobrassicin	4-methoxy-3-indolylmethyl

## 3.5.2 Reakce a změny

### 3.5.2.1 Hydrolýza glukosinolátů katalyzována myrosinázou

Glukosinoláty samy o sobě nevykazují žádné biologické účinky, projevují je až produkty jejich rozkladu (Lampová a Doskočil 2022). Při mechanickém poškození (krájení, kousání), infekci nebo napadení škůdci dojde k buněčnému rozpadu a v buňkách uložené glukosinoláty jsou následně vystaveny degradačním enzymům myrosinázám (Bones a Rossiter 1996). Degradační enzym je v neporušených pletivech uložen odděleně, v idioblastech, od glukosinolátů, které jsou situovány v parenchymatických pletivech (Lampová a Doskočil 2022).

Myrosináza neboli enzym beta-thioglukosidáza při kontaktu s GLS katalyzuje hydrolýzu thioglukosidové vazby GLS za vzniku monosacharidu (D-glukózy) a nestabilního meziprojektu tzv. aglykonového fragmentu. Meziprojekt se následně samovolně degraduje, přičemž se odštěpí hydrogensíran. Nejčastějšími rozkladnými produkty jsou isothiokyanáty a nitrily, ale může vznikat řada dalších produktů (Botti et al. 1995; Castro-Torres et al. 2020; Kayum et al. 2020).

Při hydrolýze nevznikají jen isothiokyanáty a nitrily, ale i další metabolity, jako jsou například tihokyanáty, epithionitrily a oxazolidiny. Některé z nich mohou hrát důležitou roli při obranném mechanismu rostliny. Ve studii (Kayum et al. 2020) pomocí srovnávací genomiky (silico analýz) identifikovali 13 genů myrosinázy (Myro) a 28 genů podobných myrosináze (MBP) u *Brassica oleracea* L. Porovnali dvě linie náchylnou a rezistentní po inokulaci *Plasmodiophorou brassicae*. V náchylné linii byly exprimovány 2 geny myrosinázy a 12 genů podobných myrosináze, zatímco v rezistentní linii byl exprimován 1 gen Myro a 5 genů MBP. Tato analýza prokázala, že specifické profily GLS a exprese genů byly modulovány v důsledku infekce patogenem. Rostliny s vyššími hladinami neoglukobrassicinu, glukobrassicinu a methoxyglukobrassicinu projevovaly symptomy choroby a tvořily hálky. Dále rostliny s vyššími hladinami sinigrinu, hydroxyglukobrassicinu a progoitrinu vytvářely méně symptomů a téměř žádné hálky (Kayum et al. 2020).

Rychlost hydrolýzy ovlivňuje aktivita myrosinázy, na kterou působí řada faktorů - teplota, hodnota pH, druh a část rostliny a přítomnost látek působících jako aktivátory nebo inhibitory (Velíšek 2002b).

Hodnota pH má vliv jak na rychlost enzymové hydrolýzy, tak na mechanismus degradace nestabilního aglykonu. Optimum v rámci rodů u čeledi Brassicaceae je variabilní, pohybuje se od 4 do 8, ale obecně hlavní aktivita myrosinázy je při neutrálním pH. Při pH nižším 5 stabilita enzymu klesá. Při nízkých hodnotách pH se tvoří převážně nitrily a naopak v rozmezí pH 7 – 10 je vyšší tvorba isothiokyanátů. Aktivita myrosinázy je tedy silně závislá na pH. Pro příklad optimum u brokolice a wasabi je pH 6,5 – 7, u červeného a bílého zelí je optimum pH 8 a v případě růžičkové kapusty jsou dvě různá optima pH 6 – 6,5 a 8 (Martinez-Ballesta a Carvajal 2015).

Aktivita enzymu je snížena v přítomnosti různých organických rozpouštědel, včetně jednoduchých alkoholů, ale není snížena natolik, aby se zabránilo uskutečnění reakce. Myrosináza je specificky aktivována kyselinou askorbovou, která se na ni naváže (Botti et al. 1995).

### 3.5.2.2 Produkty hydrolýzy

#### 3.5.2.2.1 Isothiokyanáty

Isothiokyanáty, jsou přirozeně se vyskytující molekuly patřící mezi vysoce reaktivní organické sirné synthony s obecnou strukturou  $R-N=C=S$ , vznikající při hydrolýze glukosinolátů (Kala et al. 2018).

#### 3.5.2.2.2 Vznik askorbigenu

Askorbigen (ABG) vzniká z prekursoru glukobrasycinu. Glukobrasicin je hydrolýzou přeměněn na indol-3-karbinol, který následně reaguje s L-askorbovou kyselinou za vzniku askorbigenu. Tvorba závisí na pH a teplotě (Wagner a Rimbach 2009).

### 3.5.3 Obsahy GLS před a po infekci *P. brassicae*

Ve studii (Ludwig-Müller et al. 1997), byl zkoumán obsah glukosinolátů v čínském zelí (*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*), během vývoje nádorovitosti košťálovin způsobené biotrofem *Plasmodiophora brassicae*. V rámci výzkumu použili dvě odrůdy náchylné ('Granát' a 'Osiris') a dvě odolné ('Parkin' a 'Yuki'), analyzovali tři třídy glukosinolátů: alifatické (alkenylové), aromatické a indolové. Obsah glukosinolátů v kořenech náchylných odrůd byl vyšší po celou dobu experimentu než v odolných odrůdách, přičemž 'Osiris' měl nejvyšší obsah GLS (tříkrát vyšší než 'Granát' a pětkrát vyšší než 'Parkin' a 'Yuki'). Po infekci *P. brassicae* obsah indolových GLS vzrostl v náchylných odrůdách po 14 a 20 dnech u odolných nebyl v obsahu rozdíl. U odrůdy 'Granát' vzrostl i obsah alifatických, v druhé náchylné odrůdě byl po celou dobu experimentu vysoký. Kořeny odolných odrůd, pěstované v přítomnosti spor *P. brassicae* vykazovaly zvýšenou koncentraci aromatických GLS po 14 a 30 dnech, což u náchylných odrůd nebylo zjištěno. Celkový obsah GLS v semenech koreloval s náchylností testovaných odrůd.

V pokusu také došlo k ošetření rostlin kyselinou salicylovou (SA) a kyselinou jasmonovou (JA). Ošetření rostlin odrůd 'Parkin' (odolná) a 'Granát' (náchylná) kyselinou salicylovou a kyselinou jasmonovou vedlo k zvýšenému obsahu glukosinolátů, ačkoli byly pozorovány rozdíly mezi oběma ošetřeními. JA indukovala hlavně indolové glukosinoláty v listech, zatímco SA indukovala indolové glukosinoláty také v kořenech u obou odrůd. U odrůdy 'Parkin' také pozorovali indukci alifatických a aromatických GLS po ošetření jasmonátem. I když 'Parkin' nevykazovala příznaky napadení, byly detekovány struktury hub uvnitř kořenů, došli k závěru, že 'Parkin' je spíše tolerantní odrůda (Ludwig-Müller et al. 1997).

Obě kyseliny hrají svou roli, když je rostlina napadena patogenem. Kyselina salicylová se účastní obrany proti biotrofním patogenům a kyselina jasmonová proti nekrotrofním, přičemž působení obou kyselin je antagonistické, ale existují důkazy, že obě tyto fytohormonální dráhy mohou být aktivovány souběžně. Nejsou odděleny časově, ale místně. SA je přítomna v blízkosti místa napadení, kyselina jasmonová se vyskytuje až za prstencem působení kyseliny salicylové. Zvyšuje to šanci rostliny na přežití při napadení různými patogeny, jako to bylo zkoumáno v u huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana*) napadeném bakteriemi rodu *Pseudomonas syringae* na listech (Janda 2018; Tsuda 2018).

### 3.6 Fytohormony (role při tvorbě nádorů)

Biotrofní patogeni obecně jsou omezeni v metabolických drahách proto, vztah mezi patogenem *P. brassicae* a hostitelskou rostlinou vede ke změnám v hormonálního stavu, buněčném vývoji patogena a toku živin (zásoba a spotřeba) v rostlině. Při tvorbě hálek hrají roli rostlinné hormony, které podporují růst. Těmito hormony jsou auxin a cytokinin, které vyvolávají hypertrofii a hyperplazii zvýšenou rychlostí buněčného dělení a zvětšením buněk. V napadených rostlinách hrají roli i další sekundární metabolity, efekt jejich působení je buď přímo na růstové hormony, nebo nepřímo díky jejich bioaktivním vlastnostem. Změny fytohormonálního systému kořenů a přeprogramování stávající meristematické aktivity za účasti látek, jako jsou auxiny, cytokininy, glukosinoláty, kamalexin, brassinosteroidy, giberelin, kyselina jasmínová a salicylová, etylen, flavonoidy a cukry, mají vliv na fenotypy nádorů. Výsledkem metabolického propadu je hromadění škrobových zrn v nádorech. Tvorba nádorů je také důsledkem přeprogramování aktivity hostitelského cévního kambia, což vede ke zvýšené proliferaci buněk, kdy se zachová produkce floému, ale silně se sníží produkce xylému. Různé dráhy a hormonální signály tedy vedou k homeostázi mezi patogenem a hostitelskou rostlinou, kdy buď dojde k tvorbě nádorů nebo potlačení jejich růstu. Protein produkovaný patogenem (PbGH3) může modifikovat auxiny a kyselinu jasmonovou produkované v infikovaných kořenových nádorech. Také *P. brassicae* sekretovaná methyltransferáza (PbBSMT) může snížit akumulaci kyseliny salicylové v infikovaných kořenech a tím zasáhnout do obraných mechanismů rostliny (Malinowski et al. 2012; Schuller et al. 2014; Schwelm et al. 2015; Saharan et al. 2021a)

Změny koncentrace auxinu a cytokininu v napadených pletivech jsou spojeny se stimulací dělení hostitelských buněk, expanzí buněk a ztrátou jejich diferenciace, to vede k růstu nádorů. Nádory jsou velkým zásobníkem živin, jako jsou sacharidy a aminokyseliny. Při raných fázích tvorby nádorů dochází ke změně v cytokinové (především cis-zeatin) odpovědi hostitele a až pak v pozdějších fázích infekce vyšší auxinovou odpověď (IAA). U náchylnějších odrůd tento stav trvá déle (příkladem může být odrůda *Brassica napus* Hornet) (Rolfé et al. 2016; Prerostova et al. 2018).

Kyselina salicylová zvyšuje odolnost vůči nemoci způsobené patogenem *P. brassicae* (Ji et al. 2021; Djavaheeri et al. 2019). Odolnější odrůdy jako je SY Alister (*Brassica napus*) mají vyšší bazální hladinu kyseliny salicylové při napadení a v kořenech stimulují produkci SA dříve než citlivější Hornet. Vyšší obsah kyseliny jasmonové je více v citlivějších odrůdách (Prerostova et al. 2018). Kyselina jasmonová může indukovat tvorbu glukosinolátů, aromatické GLS mohou hrát roli v obraně proti patogenovi a naopak alifatické hrají roli během sekundárního infekčního stádia. Pokud je zvýšený obsah JA během sekundární infekce, může být následně způsobena akumulace právě alifatických GLS (Xu et al. 2018; Jayasinghe et al. 2023).

Zvětšení buněk je zprostředkováno také brassinosteroidy a zahrnuje jak remodelaci buněčné stěny, tak endoreduplikaci (Stefanowicz et al. 2021).

### 3.7 Metabolismus rostlin při napadení *P. brassicae*

Při napadení kořenové pokožky patogen způsobuje bobtnání kořene a vyvolává růst nádoru. Během tohoto procesu je biotrofní patogen závislý na živinách hostitele, jako jsou sacharidy, aminokyseliny a lipidy. Nádor je tzv. velký metabolický zásobník, který vede k inhibici růstu zelených nadzemních částí, jelikož mají výhony a listy méně živin (Ludwig-Müller et al. 2009).

Patogen mění také metabolismus hostitele a to zejména rostlinné hormony, nejvíce auxiny a cytokininy. Jejich důležitost je z hlediska indukce buněčného dělení a prodlužování buněk. Další ovlivněné hormony mohou být ty, kteří se podílejí jakožto signální molekuly, zabraňující stresu ze sucha nebo podílejší se na regulaci obrany (např. kyselina salicylová). K těmto změnám dochází během sekundárního infekčního cyklu. Změny během primární fáze infekce nejsou tak výrazné, dochází k indukci buněčného dělení a prodlužování buněk, za vzniku nových meristematických částí. Dosud se neví zda zde hrají svoji roli rostlinné hormony (Janda 2018; Ludwig-Müller et al. 2009)

#### 3.7.1 Koncentrace IAA v infikovaných rostlinách a související morfologické změny

Morfologické změny související s napadením *P. brassicae*, jako je buněčné dělení a prodloužení buněk, které vedou ke vzniku nádoru, začínají už v raných stádiích infekce. Součástí změn buněčné stěny jsou enzymy xyloglukan endotransglukosylázy/hydrolázy (XTH), které ji modifikují. XTH mohou mít aktivitu xyloglukan endotransglukosylázy (XET) nebo endohydrolázy (XEH). Převážně vykazují aktivitu XET, (Saladié et al. 2006).

Analýza expanze buněk byla provedena v experimentu (Devos et al. 2005), kde pozorovali působení xyloglukan endotransglukosylázy/hydrolázy (XTH) a provedli projekci endogenních koncentrací několika fytohormonů pomocí hmotnostní spektrometrie u raných stádiích *P. brassicae* v pekingském zelí (*Brassica rapa* spp. *pekinensis*).

Počáteční infekce vede k zvýšení celkového obsahu auxinů a zvýšené aktivity XTH. Tím dojde k uvolňování stěn a následné expanzi buněk. Třináct dní po infekci, kdy se vytvoří první sekundární plazmodia, lze považovat za bod změny v metabolismu fytohormonů. Dvacet jedna dní po infekci mohou plazmodia působit jako zásobárna rostlinných hormonů, což má za následek snížení aktivního poolu cytokininů a nižší obsah kyseliny indol-3-octové v infikovaných rostlinách (Devos et al. 2005).

Lze to vidět i na příkladu u tolerantních a náchylných odrůd čínského zelí (*Brassica rapa* spp. *pekinensis*), kdy koncentrace IAA v případě infikovaných rostlin *P. brassicae* byla v průměru o 66,5 % vyšší než u neinfikovaných. V tolerantních i náchylných odrůdách po deseti dnech od inokulace, byla nalezena vyšší koncentrace IAA, než v neinfikovaných. Po čtrnácti dnech poklesla hladina IAA u náchylných odrůd a zvýšila se naopak u tolerantních (Ludwig-Müller et al. 1993).



### 3.7.2 Metabolismus GLS a IAA

Metabolismus glukosinolátů je propojen s biosyntézou auxinů (IAA), obě zmíněné chemické látky hrají roli při napadení kořenů *Plasmodiophorou brassicae*. Indolové GLS jsou prekurzorem pro indol-3-octovou kyselinu, která je hlavním zástupcem auxinů v rostlině. Ve studii (Siemens et al. 2002), kde zkoumali sady mutantních linií a ekotypů Huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana*) ovlivněných například fytohormony, fytoalexiny, glukosinoláty, lipidovým nebo cukerným metabolismem v interakci s *P. brassicae*, byly identifikovány fyziologicky relevantní procesy během patogeneze nádorovitosti kořenů. Zjistili například, že u jedné testované linie huseníčku (jar1-1) bylo prokázáno, že hladina kyseliny jasmonové se zvýšila při vývoji nádorů a rovněž indukovala indolové glukosinoláty a nitrilázu.

U druhů rodu *Brassica* byla zjištěna korelace mezi hypertrofií a hyperplazií hostitelských buněk a zvýšeným obsahem fytohormonů auxinu a cytokininu, kdy zvýšený obsah IAA byl i v nádorech u různých ekotypů huseníčku. Naznačuje to, že auxin se zdá být spíše podporujícím doplňkem pro tvorbu nádorů než nutným předpokladem pro samotnou infekci nebo vývoj patogena. Nicméně projev nemoci je ovlivněn také růstem rostliny a charakterem rostliny. Divoké typy rostliny mají snížený obsah glukosinolátů, odpovídá to i sníženému obsahu indol-3-octové kyseliny a indol-3-acetonitrilu. Ve výzkumu bylo naznačeno, že i určitý význam na vývoj příznaků má zejména nitriláza (Siemens et al. 2002).

Indolové GLS přispívají k biosyntéze auxinu prostřednictvím metabolických intermediátů indol-3-acetaldoximu (IAOx) a indol-3-acetonitrilu (IAN). IAOx je tzv. odbočný bod metabolismu pro biosyntézu indolových GLS, IAA a kamalexinu. Prerušení metabolického toku IAOx do indolových GLS vede k vysoké produkci auxinu. IAN je také produkován jako hydrolyzovaný produkt indolových GLS a metabolizován na IAA nitrilázami (Malka a Cheng 2017).

### 3.7.3 Strategie obrany a růstu rostlin podle povahy poškození

Ve studii (Vik et al. 2018), byly zkoumány strategie obrany rostliny a růstu v závislosti na povaze poškození ať už škůdcem či nekrotrofním či biotrofními patogeny. Při poškození konkrétně u huseníčku (*Arabidopsis thaliana*), rostlina spoléhá na obranyschopnost indolového GLS, konkrétně indol-3-ylmethyl. Při hydrolýze enzymem myrosinázou je uvolněno množství bioaktivních látek. Mezi nimi je například indol-3-acetonitril, indol-3-acetoisothiokyanát a indol-3-karbinol. Vysoce nestabilní isothokyanát rychle reaguje s dalšími molekulami. Indol-3-karbinol patří mezi inhibitory auxinové signalizace díky navázání na TIR1 auxinový receptor. Naopak indol-3-acetonitril může být přeměněn nitrilázovými enzymy na primární molekulu auxinu (indol-3-octovou kyselinu), která aktivuje TIR1. Znamená to, že auxinová signalizace podléhá jak antagonistickým tak protagonistickým účinkům hydrolýzy GLS indol-ylmethyl při poškození.

## 4 Materiál a metody

### 4.1 Pokus v substrátu

V rámci této diplomové práce byl v pokusných sklenících katedry ochrany rostlin (FAPPZ, ČZU v Praze) založen nádobový pokus s univerzálním hostitelem, který je náchylný na všechny patotypy patogena způsobující chorobu nádorovitost košťálovin (*Plasmodiophora brassicae*), konkrétně pekingské zelí 'Granaat' (*Brassica campestris* spp. *pekinensis* cv. Granaat), nomenklatura byla sjednocena dle Klíče ke květeně ČR (Woronin, M. S. 1877; Buczacki et al. 1975; Kaplan 2019).

Cílem bylo zhodnotit vliv výživy, zaměřený především na dusík a síru, na rozvoj onemocnění nádorovitosti brukvovitých. Pokus zahrnoval celkově 20 variant z čehož jedna polovina nebyla inokulována a dalších deset bylo inokulováno *P. brassicae*. Jednotlivé varianty se od sebe také lišily dodanými živinami různými hnojivy (Kristalon start,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  a  $\text{NaHSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ). Byly vždy obdobné podmínky hnojení pro varianty bez inokula (končící zpravidla písmenem A) a pro varianty, které byly inokulovány patogenem způsobující chorobu nádorovitosti brukvovitých (končící zpravidla písmenem B), jak uvádí tabulka č. 3.

Jedna varianta se skládala z osmi malých květináčů (rozměr: 9 x 9 x 10 cm, objem: 0,50 l), které byly umístěny na jednom podkvětníku a tím byly odděleny od ostatních variant. Do každého květináče při zakládání pokusu byly vsazeny dvě semena *Brassica campestris* spp. *pekinensis* cv. Granaat. Pro větší přehlednost byla každá z variant byla označena příslušnou zkratkou, viz tabulka č. 3.

Použitý substrát: Gramoflor hrnkovací směs + lignofibre (70 l). Substrát byl nejdříve sterilizován vodí párou po dobu 25 min při 120 °C v přístroji: Autokláv Sanyo MLS 3780.

Navážky jednotlivých hnojiv byly provedeny na analytických vahách podle předem stanovených hmotností na objem 1 l. Hnojení probíhalo ob týden po 25 ml příslušného roztoku k náležející variantě do každého květináče ve variantě. Každé variantě bylo dodáno konkrétního množství dusíku a síry (uvedeno v tabulce č. 4).

Použitá hnojiva s obsahy jednotlivých živin:

- $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (N 35 %, S 0 %)
- $\text{NaHSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (N 0 %, S 23,19 %)
- Kristalon start: celkový N 19 %,  $\text{SO}_4^{2-}$  7,5 %,  $\text{P}_2\text{O}_5$  6 %,  $\text{K}_2\text{O}$  20 %, MgO 3 %, B 0,025 %, Fe 0,07 %, Cu 0,01 %, Mn 0,04 %, Mo 0,004 %, Zn 0,025 %.

Tabulka 3 Přehled jednotlivých variant a navážky jednotlivých hnojiv.

Varianta	Hnojení	Dávka hnojiva (g/l) - navážky			Inokulace <i>P. brassicae</i>
		Kristalon	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	NaHSO <sub>4</sub> . H <sub>2</sub> O	
<b>K0A</b>	kontrola	0	0	0	ne
<b>K0B</b>	kontrola	0	0	0	ano
<b>K100A</b>	kontrola 100 % Kristalon	1,500	0	0	ne
<b>K100B</b>	kontrola 100 % Kristalon	1,500	0	0	ano
<b>K75A</b>	kontrola 75 % Kristalon	1,125	0	0	ne
<b>K75B</b>	kontrola 75 % Kristalon	1,125	0	0	ano
<b>V1A</b>	75 % Kristalon, NS na 100 %	1,125	0,203571	0,1212807	ne
<b>V1B</b>	75 % Kristalon, NS na 100 %	1,125	0,203571	0,1212807	ano
<b>V2A</b>	75 % Kristalon, NS na 125 %	1,125	0,407143	0,2425614	ne
<b>V2B</b>	75 % Kristalon, NS na 125 %	1,125	0,407143	0,2425614	ano
<b>V3A</b>	75 % Kristalon, NS na 150 %	1,125	0,610714	0,3638422	ne
<b>V3B</b>	75 % Kristalon, NS na 150 %	1,125	0,610714	0,3638422	ano
<b>V4A</b>	75 % Kristalon, N na 100 %	1,125	0,203571	0	ne
<b>V4B</b>	75 % Kristalon, N na 100 %	1,125	0,203571	0	ano
<b>V5A</b>	75 % Kristalon, N na 125 %	1,125	0,407143	0	ne
<b>V5B</b>	75 % Kristalon, N na 125 %	1,125	0,407143	0	ano
<b>V6A</b>	75 % Kristalon, S na 100 %	1,125	0	0,1212807	ne
<b>V6B</b>	75 % Kristalon, S na 100 %	1,125	0	0,1212807	ano
<b>V7A</b>	75 % Kristalon, S na 125 %	1,125	0	0,2425614	ne
<b>V7B</b>	75 % Kristalon, S na 125 %	1,125	0	0,2425614	ano

Tabulka 4 Celkové množství dodaného dusíku a síry do jednotlivých variant.

Varianta	Aplikované dávky živin (g)	
	N celk.	S celk.
<b>K0A</b>	0	0
<b>K0B</b>	0	0
<b>K100A</b>	0,285000	0,112500
<b>K100B</b>	0,285000	0,112500
<b>K75A</b>	0,213750	0,084375
<b>K75B</b>	0,213750	0,084375
<b>V1A</b>	0,285000	0,112500
<b>V1B</b>	0,285000	0,112500
<b>V2A</b>	0,356250	0,140625
<b>V2B</b>	0,356250	0,140625
<b>V3A</b>	0,427500	0,168750
<b>V3B</b>	0,427500	0,168750
<b>V4A</b>	0,285000	0,084375
<b>V4B</b>	0,285000	0,084375
<b>V5A</b>	0,356250	0,084375
<b>V5B</b>	0,356250	0,084375
<b>V6A</b>	0,213750	0,112500
<b>V6B</b>	0,213750	0,112500
<b>V7A</b>	0,213750	0,140625
<b>V7B</b>	0,213750	0,140625

Inokulace univerzálního hostitele *P. brassicae* byla provedena tzv. směsným inokulem z různých izolátů. Jednotlivé izoláty pocházeli z lokalit: Jičín, Hrádek nad Nisou, Terežín a Opavsko (zde bylo více izolátů). Pro extrakci trvalých spor byly použity metody dle různých studií (P. H. Williams 1966; Tewari et al. 2005; Strelkov et al. 2006; Řičařová et al. 2016), které byly upraveny pro této pokus následně. Sklizené nádory izolátů z různých lokalit byly rozemlety a roztok v praven do předem připravené bedny se substrátem, na kterém se patotypy namnožili na univerzálních hostitelích, čímž byla prokázána virulence daných patotypů. Získané virulentní inokulum v podobě sklizených nádorů, bylo použito následně pro nádobový pokus a k inokulaci rostlin pekingského zelí.

Navážka 7,5 g nádorů se směsnou infekcí byla smíchaná s destilovanou vodou (300 ml) a po dobu 3 x 1 min v mixéru rozdracena, aby se nepřehřála suspenze a postupně se také nádoba oplachovala stříčkou s destilovanou vodou. Následně byl získaný heterogenní roztok přefiltrován pomocí tří filtračních sít s různou velikostí otvorů (425; 250 a 25  $\mu\text{m}$ ) (P. H. Williams 1966; Tewari et al. 2005; Strelkov et al. 2006; Řičařová et al. 2016).

Stanoven byl minimální počet spor v 1 ml na  $10^7$  spor potřebných k inokulaci univerzálního hostitele, tedy aby ve 2 ml dodaném roztoku do každé nádoby bylo minimálně 20 milionů ( $2 \cdot 10^7$ ) spor. Počet spor byl stanoven pomocí světelného mikroskopu Olympus BX 41 a Bürkerovy počítací komůrky. V den inokulace bylo do každé nádoby, ve variantách s napadením, vpraveno pomocí automaticky nastavitelné pipety po 2 ml roztoku s virulentním

inokulem (P. H. Williams 1966; Tewari et al. 2005; Strelkov et al. 2006; Gunetti et al. 2012; Řičařová et al. 2016).

Harmonogram pokusu byl následující:

- 16. listopadu 2023: založený pokus, zasazená semena (viz obrázek č. 10).
- 5. prosince 2023: první pravé listy – inokulace patogenem (viz obrázek č. 11).
- 7. prosince 2023: první hnojení.
- 14. prosince 2023: druhé hnojení\*.
- 21. prosince 2023: třetí hnojení.
- 4. ledna 2024: čtvrté hnojení.
- 11. ledna 2024: páté hnojení.
- 17. ledna 2024: sklizeň (viz obrázky č. 12 a 13).
- 18. ledna 2024: vyhodnocení a vážení vzorků (viz obrázky č. 14 a 15).

\*Při druhém hnojení se na listech objevily housenky, které způsobily žír na listech. Proto byly nejvíce zasažené listy odstraněny, aby nedošlo k uvadnutí celé rostliny. Následně byly všechny varianty ošetřeny přípravkem Karate.

U všech pokusů byly provedeny následující analýzy:

- Zvážení hmotnosti nadzemní části všech rostlin ve variantě (v čerstvém stavu).
- Zvážení hmotnosti kořenů všech rostlin ve variantě (v čerstvém stavu).
- Vyhodnocení napadení pouze v variantách, které byly inokulovány patogenem (v čerstvém stavu) – viz níže.
- Vypočtený index napadení v inokulovaných variantách.
- Stanovení obsahu některých živin ve sklizených rostlinách (zvláště pro nadzemní a podzemní část) – metody jsou uvedeny níže.

## 4.1.1 Vyhodnocení pokusu

### 4.1.1.1 Kvantitativní parametry: váha nadzemní části a kořenů rostlin

Vyhodnocení sklizeného pokusu spočívalo ve zvážení jednotlivých rostlin ve variantě, a to zvláště nadzemní část rostliny a zvláště kořeny rostliny. Rostliny byly zváženy v čerstvém stavu do 24 h po sklizni na laboratorních vahách. Část vzorků byla schována pro další analýzu (obsah živin).

Výsledky byly statisticky zpracovány pomocí programu Statistica 12 (STATSOFT 2017) a R studia (RStudio Team 2022). Některé grafy a tabulky byly upraveny pomocí programu Microsoft Excel (EXCEL 2007).

### 4.1.1.2 Vyhodnocení napadení kořenů patogenem *P. brassicae*

Po sklizni byl vyhodnocen stupeň napadení u rostlin, pouze ve variantách, které byly inokulovány patogenem (obvykle varianta končí písmenem B), dle stupnice viz obrázek č. 3, ze studie (Ji et al. 2021). Stupnice je tvořena čtyřmi stupni možného napadení: 0 – bez napadení,

1 – malý nádor na postranních kořenech, 2 – malý až střední nádor na postranním a hlavním kořeni, 3 – velký nádor, hlavní kořen deformován (Kuginuki et al. 1999; Ji et al. 2021).

Výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí programu Statistica 12 (STATSOFT 2017) a R studia (RStudio Team 2022). Některé grafy a tabulky byly upraveny pomocí programu Microsoft Excel (EXCEL 2007).

Byl vypočten index napadení dle vzorce:  $ID (\%) = \frac{\Sigma(n \times 0 + n \times 1 + n \times 2 + n \times 3)}{N \times 3} \times 100$ , kde  $n$  je počet rostlin v jednotlivých stupních stupnice napadení a  $N$  je celkový počet rostlin. Byly použity dvě hranice reakce zkoumaných rostlin – 25 % ID (index of disease) a 50 % ID, podle kterých se odpověď jedince stanovila jako náchylná nebo rezistentní (Strelkov et al. 2006; Řičařová et al. 2017).



Obrázek 3 Hodnotící stupnice napadení a vlastní vytvořená stupnice z fotografií z pokusu. Stupně napadení: 0 – bez napadení, 1 – malý nádor na postranních kořenech, 2 – malý až střední nádor na postranním a hlavním kořeni, 3 – velký nádor, hlavní kořen deformován (Ji et al. 2021).

#### 4.1.2 Posklizňové analýzy obsahu živin v sušině rostlin

Nadzemní hmota a kořeny analyzovaných rostlin byly zvláště usušeny za pomoci ON-01E sušárny s přirozenou cirkulací a jemně namlety. Kořeny byly namlety v hmoždíři a nadzemní části ve střížném mlýnu SM 100, aby se dosáhlo maximální požadované hrubosti materiálu 2 mm pro následný rozklad na mokré cestě. Jednalo se o směsný vzorek z více rostlin ve variantě, aby bylo dosaženo požadovaného množství materiálu pro analýzu. Bylo naváženo 0,5 g ( $\pm 0,005$ g) namletého materiálu. Ten byl převeden do roztoku rozkladem na mokré cestě s pomocí mikrovlnné digesce v prostředí kyseliny dusičné a peroxidu vodíku. Získaný vzorek byl poté kvantitativně převeden do roztoku (finální objem 50 ml) a analyzován ICP-OES pro

změření obsahů P, Ca, Mg, S a mikroelementů, rovněž pomocí atomového absorpčního spektrometru (AAS) pro získání hodnoty celkového obsahu K.

Obsahy jednotlivých živin posloužily k doplnění informací k již získaným datům. Nesloužily však jako podklad pro další statistická vyhodnocení.

## 4.2 Hydroponie

Před založením nádobového pokusu byl založen hydroponický pokus se stejným univerzálním hostitelem, inokulem a dodaným hnojivem. V tomto pokusu nebyla však založena varianta bez hnojení. Použita byla upravená kultivační sada IKEA VÄXER.

Selhal zde výplňový materiál (perlit) květináčů v nádobách s živným roztokem, který nebyl dostatečně propustný k semenům a k následným kořenům. Semena buď nevyklíčila v dostatečném množství v jednotlivých variantách, anebo rostliny uschly. Statistická vyhodnocení na tomto pokusu nešla provést z důvodu malého počtu reprezentujících rostlin v jednotlivých variantách.

Variant bylo celkem osmnáct viz tabulka č. 5. V jedné nádobě s živným roztokem (tzn. jedné variantě), bylo umístěno 8 košíků naplněných perlitem. Do každého z košíku byly vpraveny tři semena. Bylo ovšem nutné několikrát zopakovat dosev. Živný roztok byl vpraven jednorázově, při zakládání pokusu (1 l). Zalévání fungovalo na dolití destilovanou vodou po objem stanovený ryskou v nádobě (1 l).

Harmonogram pokusu s hydroponií:

- 25. července 2023: založení pokusu (viz obrázek č. 16).
- 21. srpna 2023: inokulace patogenem (viz obrázek č. 17).
- 25. září 2023: sklizeň a vyhodnocení (viz obrázky č. 18 a 19).

Tabulka 5 Přehled jednotlivých variant – hydroponie.

Varianta	Hnojení	Dávka hnojiva (g/l) - navážky			Inokulace <i>P. brassicae</i>	Aplikované dávky živin (g)	
		Kristalon	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	NaHSO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O		N celk.	S celk.
H_K100A	kontrola 100 % Kristalon	1,500	0	0	ne	0,29	0,11
H_K100B	kontrola 100 % Kristalon	1,500	0	0	ano	0,29	0,11
H_K75A	kontrola 75 % Kristalon	1,125	0	0	ne	0,21	0,08
H_K75B	kontrola 75 % Kristalon	1,125	0	0	ano	0,21	0,08
H_V1A	75 % Kristalon, NS na 100 %	1,125	0,203571	0,1212807	ne	0,29	0,11
H_V1B	75 % Kristalon, NS na 100 %	1,125	0,203571	0,1212807	ano	0,29	0,11
H_V2A	75 % Kristalon, NS na 125 %	1,125	0,407143	0,2425614	ne	0,36	0,14
H_V2B	75 % Kristalon, NS na 125 %	1,125	0,407143	0,2425614	ano	0,36	0,14
H_V3A	75 % Kristalon, NS na 150 %	1,125	0,610714	0,3638422	ne	0,43	0,17
H_V3B	75 % Kristalon, NS na 150 %	1,125	0,610714	0,3638422	ano	0,43	0,17
H_V4A	75 % Kristalon, N na 100 %	1,125	0,203571	0	ne	0,29	0,08
H_V4B	75 % Kristalon, N na 100 %	1,125	0,203571	0	ano	0,29	0,08
H_V5A	75 % Kristalon, N na 125 %	1,125	0,407143	0	ne	0,36	0,08
H_V5B	75 % Kristalon, N na 125 %	1,125	0,407143	0	ano	0,36	0,08
H_V6A	75 % Kristalon, S na 100 %	1,125	0	0,1212807	ne	0,21	0,11
H_V6B	75 % Kristalon, S na 100 %	1,125	0	0,1212807	ano	0,21	0,11
H_V7A	75 % Kristalon, S na 125 %	1,125	0	0,2425614	ne	0,21	0,14
H_V7B	75 % Kristalon, S na 125 %	1,125	0	0,2425614	ano	0,21	0,14

U všech variant byly provedeny následující analýzy:

- Zvážení hmotnosti nadzemní části všech rostlin ve variantě (v čerstvém stavu).
- Zvážení hmotnosti kořenů všech rostlin ve variantě (v čerstvém stavu).
- Vyhodnocení napadení pouze variantách, které byly inokulovány patogenem (v čerstvém stavu)
- Vypočítání indexu napadení dle studie (Strelkov et al. 2006; Řičařová et al. 2017).

Vyhodnocení napadení bylo provedeno dle studie viz. pokus v substrátu. Rostlinné vzorky (inokulované varianty) byly hodnoceny dle stupnice: 0 – bez napadení, 1 – malý nádor na postranních kořenech, 2 – malý až střední nádor na postranním a hlavním kořeni, 3 – velký nádor, hlavní kořen deformován (Kuginuki et al. 1999; Ji et al. 2021)

Index napadení byl vypočten dle vzorce:  $ID (\%) = \frac{\sum(n \times 0 + n \times 1 + n \times 2 + n \times 3)}{N \times 3} \times 100$ , kde n je počet rostlin v jednotlivých stupních stupnice napadení a N je celkový počet rostlin. Byly použity dvě hranice reakce zkoumaných rostlin – 25 % ID (index of disease) a 50 % ID, podle kterých se odpověď jedince stanovila jako náchylná nebo rezistentní.



## 5 Výsledky

### 5.1 Pokus v substrátu

Do každé varianty bylo v průběhu pokusu dodané určité množství dusíku a síry (viz tabulka č. 4). Dusík a síra nebyly dodány do variant, které sloužily jako prostá kontrola (K0A a K0B). Nejméně dodaného dusíku (když pomíneme varianty do kterých nebyl dusík dodán), měly k dispozici K75A/B, V6A/B, V7A/B (0,21375 g N). V případě dodané síry bylo nejméně vpraveno u variant K75A/B, V4A/B, V5A/B (0,084375 g S). Z toho vyplynulo, že K75A a K75B měly nejméně dodaného dusíku i síry. Nejvíce dusíku i síry bylo dodáno do V3A a V3B (0,4275 g N; 0,16875 g S) v průběhu vegetace.

#### 5.1.1 Kvantitativní parametry

Po sklizni byla zvážena čerstvá nadzemní hmota rostlin i kořeny. Počet rostlin v jedné variantě se pohyboval od 13 do 18 kusů, nejčastěji bylo 16 rostlin v jedné variantě.

##### 5.1.1.1 Váha nadzemní části rostlin

Váha nadzemní hmoty pocházela z dat s normálním rozdělením a splňovala podmínky homosekedacity ( $p < \alpha = 0,05$ ), proto byla pro vyhodnocení zvolena jednofaktorová ANOVA a následný Tukeyův test – homogenních skupin. V grafu (obrázek č. 4) jsou červeně vyznačeny statisticky odlišné varianty.

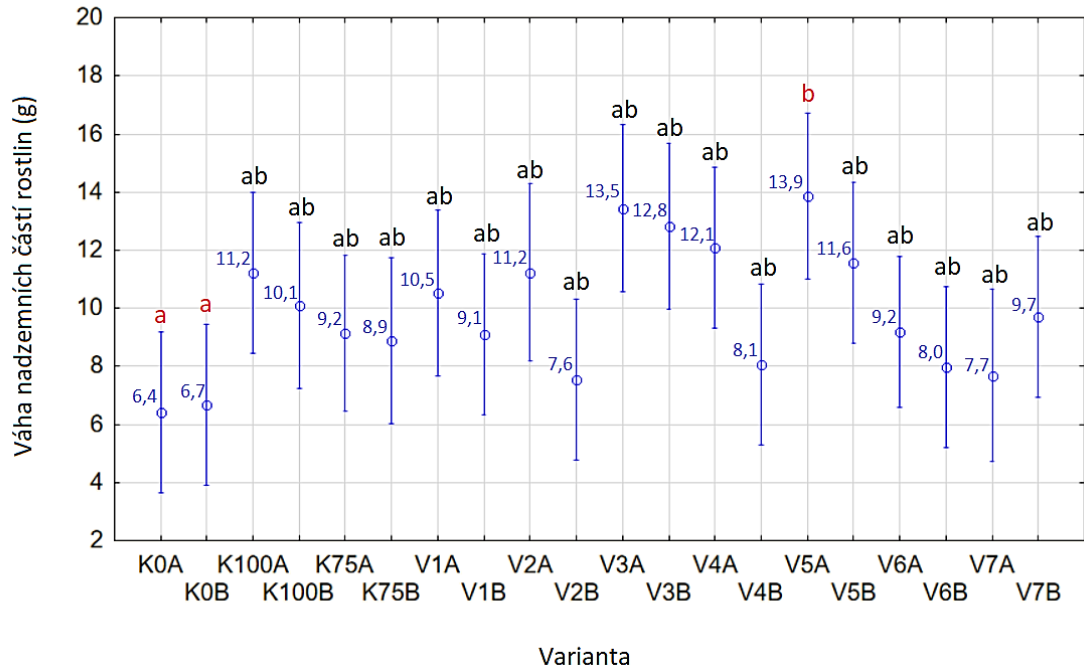
Na nadzemní část nemělo vliv ani jednotlivé hnojení a ani napadení. Varianty, které jsou statisticky odlišné K0A/B nebyly hnojené (viz obrázek č. 4). Statisticky významná vycházela i varianta V5A s nejvyšší průměrnou hmotností nadzemní hmoty (13,9 g), která byla inokulována a hnojená. Varianty K0A/B měly naopak nejnižší průměrnou váhou nadzemní hmoty (6,4 a 6,7 g). Celkově lze vidět, že až na varianty K0A/B a V7A/B vycházely inokulované varianty (končící -B) v průměrných hodnotách lehce hůř, než jejich ekvivalentní neinokulované (končící -A).

### Průměry váhy nadzemních částí rostlin.

$p = 0,00146$ ;  $F(19,292) = 2,3430$

Vertikální sloupce označují 0,95 intervaly spolehlivosti

Tukeyův HSD test - homogenní skupiny,  $\alpha = 0,05$



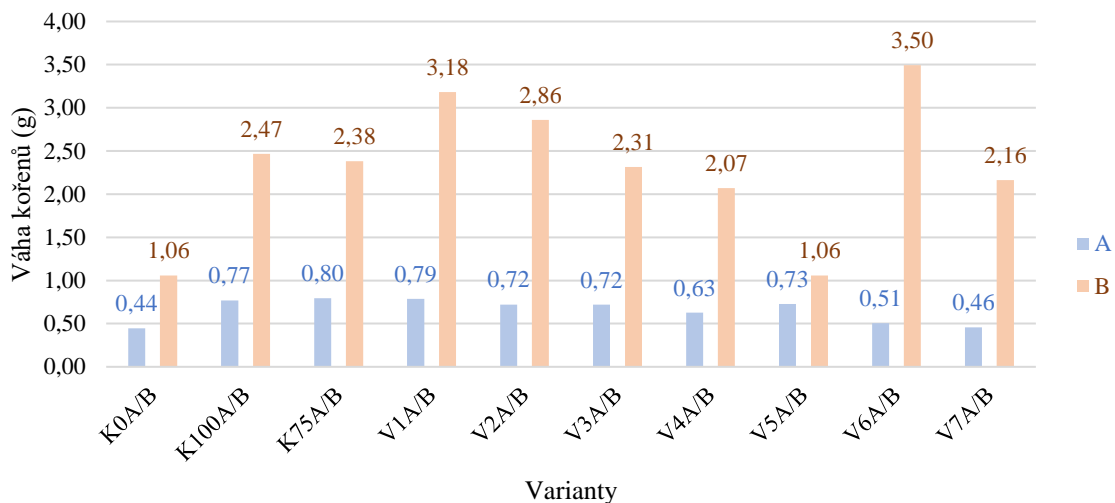
Obrázek 4 Průměrné hmotnosti nadzemních částí u jednotlivých variant (g).

#### 5.1.1.2 Váha kořenů rostlin

Váha kořenů pocházela z dat s normálním rozdělením a splňovala podmínky homosekedacity ( $p < \alpha = 0,05$ ), když byla data pomocí funkce log transformována (= log (váha kořenů)). Následně byla pro vyhodnocení zvolena jednofaktorová ANOVA a Tukeyův test – homogenních skupin.

V grafu č. 1 jsou uvedeny průměry hmotnosti kořenů jednotlivých variant (g) a statistická odlišnost variant, ve váze kořenů, byla zaznamenána v obrázku č. 5.

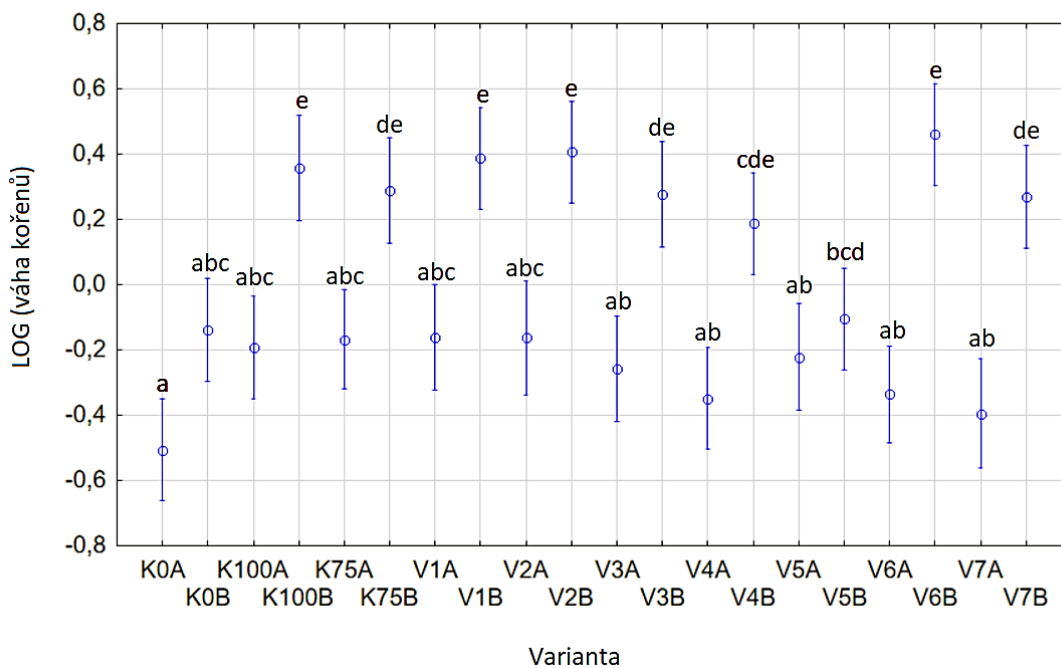
Variety inokulované (-B), měly vždy vyšší hmotnost kořenů, než variety neinokulované (-A) z důvodu napadení. Napadení, v podobě nádorů na kořenech, mělo vliv na váhu podzemní části rostlin. Variety V5A (0,73 g) a V5B (1,05 g) se v průměru od sebe tolik nelišily (dokonce i méně než nehojené kontroly). Největší rozdíl, v průměrné váze, byl u variant V6A/B, kdy i V6B měla největší průměrnou váhu kořenů 3,5 g, ze všech variant. Nejnižší průměrné hodnoty byly zvaženy u varianty K0A (0,44 g) a následně u V7A (0,46 g).



Graf 1 Průměrné váhy kořenů ve variantách (g).

Průměry LOG váhy kořenů

$p = 0,0000$ ;  $F(19,292) = 14,861$   
 Vertikální sloupce označují 0,95 intervaly spolehlivosti  
 Tukeyuv HSD test - homogenní skupiny,  $\alpha = 0,05$

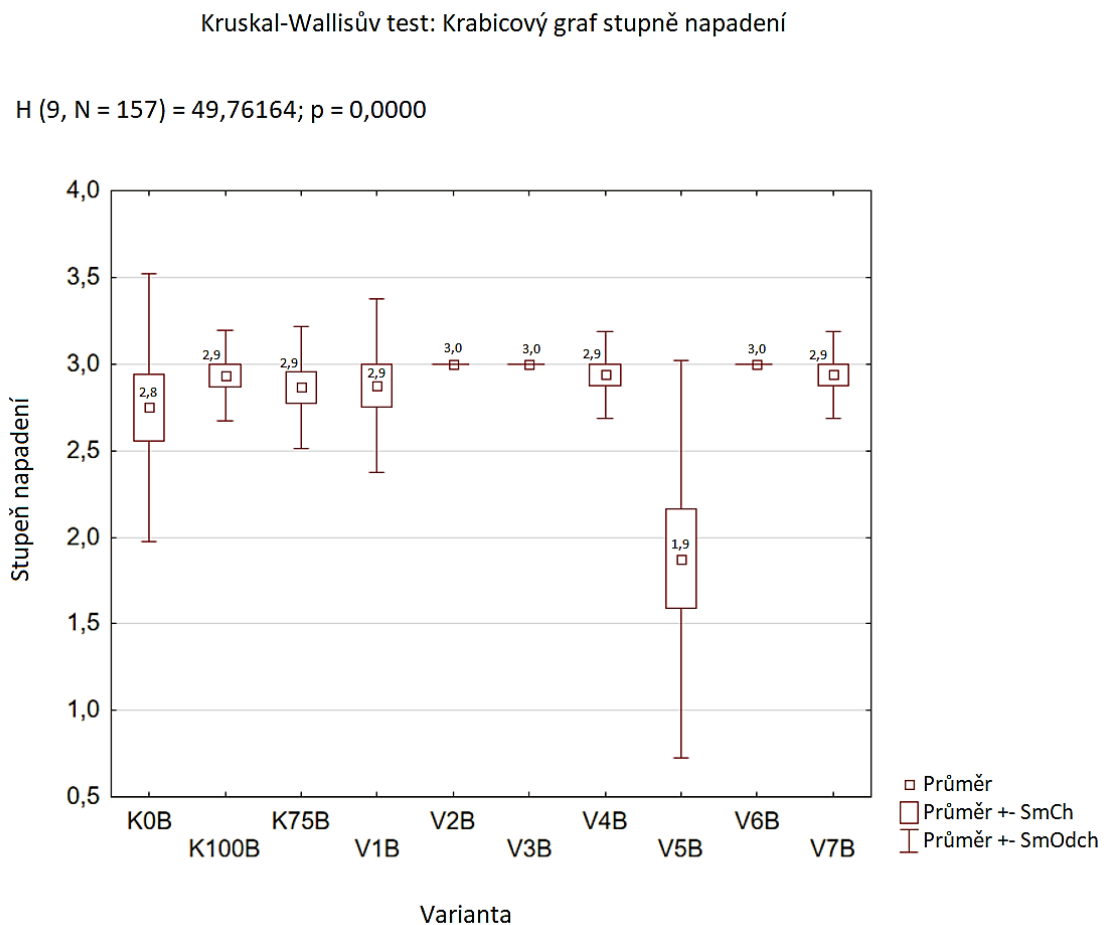


Obrázek 5 Transformovaná data váhy kořenů (log) a rozdělení dle homogenních skupin.

## 5.1.2 Napadení kořenů patogenem *P. brassicae*

Použitý byl model předpokládající negativně binomické rozdělení dat (GLM-nb). Nejdřív byla data transformována pomocí funkce (= stupeň napadení – 3), data vyšla následovně: 3 = 0; 2 = – 1; 1 = – 2; 0 = – 3. Výsledek analýzy byl jasně průkazný, že varianty se od sebe liší ( $\chi^2(9) = 49,621$ ;  $p = 0,0001$ ).

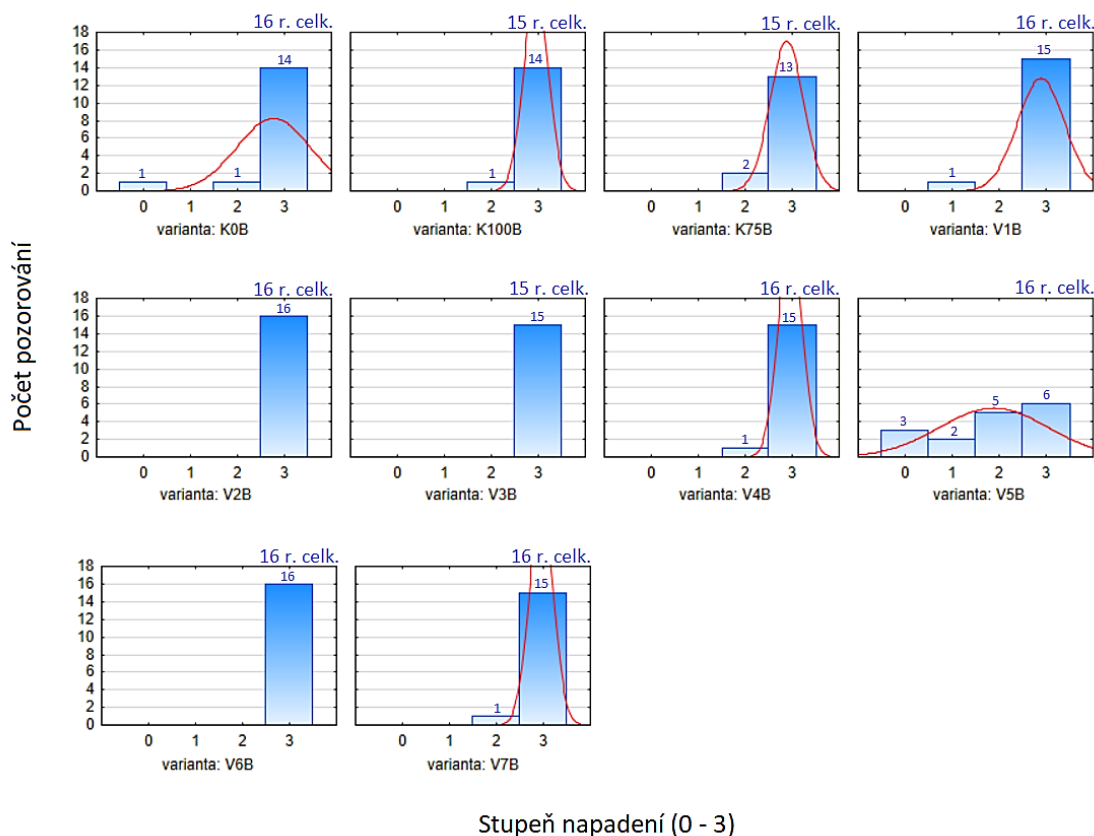
Data nesplňovala podmínky pro parametrické testy, proto byl jako další zvolen neparametrický test Kruskal-Wallis (obrázek č. 6). Mezi jednotlivými varianty nebyla zjištěna statisticky významná odlišnost.



Obrázek 6 Stupně napadení Kruskal-Wallis – krabicový graf.

Celkový počet diagnostikovaných rostlin (r. celk.) se ve variantách pohyboval od 15 do 16 kusů na variantu. Podle histogramů u jednotlivých variant, lze vidět, že varianta V5B, přestože nebyla vyhodnocena jako statisticky významně odlišná, vynikala v menším počtu silného napadení (3 – velký nádor) než ostatní varianty, viz obrázek č. 7. Všechny varianty měly silně napadené rostliny od 13 do 16 kusů ve variantě, varianta V5B pouze 6 rostlin. Varianta V5B měla také nejvyšší počet rostlin 0 – bez napadení (3 kusy), kontrola K0B měla pouze jednu nenapadenou rostlinu, jinak všechny varianty byly příznakové. V případě V2B, V3B a V6B měly všechny rostliny ve variantách velký nádor a hlavní kořen byl deformován.

### Kruskal-Wallisův test: Kategoriz. histogram stupňů napadení



Obrázek 7 Histogramy jednotlivých inokulovaných variant.

Byl vypočítán index napadení uvedený v tabulce č. 6. Výsledek „červeně zvýrazněný“, opět potvrzuje nejnižší napadení ve variantě V5B (62,5 %), ale ani tak se tato varianta nedostala pod stanovenou hranici 50 % a rekce varianty byla náchylná jako u všech ostatních diagnostikovaných variant.

Tabulka 6 Index napadení (%) u jednotlivých variant.

Varianta	K0B	K100B	K75B	V1B	V2B	V3B	V4B	V5B	V6B	V7B
ID (%)	91,67	97,78	95,56	95,83	100,00	100,00	97,92	62,50	100,00	97,92

### 5.1.3 Obsahy prvků v sušině rostlin

Nebyly změřeny obsahy dusíku v nadzemní hmotě a ani v kořenech z důvodu nedostupných přístrojů k změření hodnot.

### 5.1.3.1 Obsahy prvků v sušině nadzemní hmoty rostlin

Obsahy živin v sušině nadzemní hmoty rostlin byly zaznamenány na grafech v obrázku č. 8.

V nadzemní hmotě bylo u draslíku naměřeno nejméně ve variantě K0A 1720 mg/kg, kde tato hodnota byla extrémně nízko v porovnání s ostatními variantami. Další nízké hodnoty K byly ve vzorcích V2B (21520 mg/kg v sušině) a K75A (21734 mg/kg v sušině). Největší podíl K bylo naměřeno ve variantě V7A a K100A (32720 a 31138 mg/kg v sušině).

Vápník byl naměřen ve variantě K3B v největší koncentraci ze všech variant (41995 mg/kg Ca v sušině). Nejmenší koncentrace vápníku byla ve variantách V1A (16082 mg/kg v sušině) a K75A (17536 mg/kg v sušině). Ve všech inokulovaných variantách byl vyšší obsah Ca než v nenapadených kromě V4A/B.

Fosfor se ve všech variantách pohyboval poměrně ve stejných hladinách. Největší obsah P v sušině byl naměřen ve variantě V4B (3938 mg/kg). Nejméně P bylo ve variantě V3A (2059 mg/kg v sušině).

Ve všech inokulovaných variantách až na varianty K100A/B a V4A/B, byl obsah síry vyšší než ve variantách neinokulovaných. Nejvíce S bylo ve vzorku V3B (13922 mg/kg v sušině). Nejméně síry s obsahem 4103 mg/kg v sušině, bylo změřeno ve vzorku V1A.

Hladiny obsahu hořčíku v jednotlivých vzorcích byly v podobných koncentracích bez výrazných extrémů. Nejvíce hořčíku bylo zjištěno u varianty V3B (4694 mg/kg v sušině). Nejnižší obsah byl ve variantě V7A (2766 mg/kg v sušině).

Obsah železa v jednotlivých variantách byl nepravidelný, obsahy kolísaly od minimální hodnoty 34 mg/kg Fe v sušině (V3A) až po maximální hodnotu 235 mg/kg Fe v sušině (V4B).

Mangan byl v nejvíce obsažen v sušině nadzemní hmoty u varianty V4A (347 mg/kg) a nejméně ve variantě V1A (98 mg/kg).

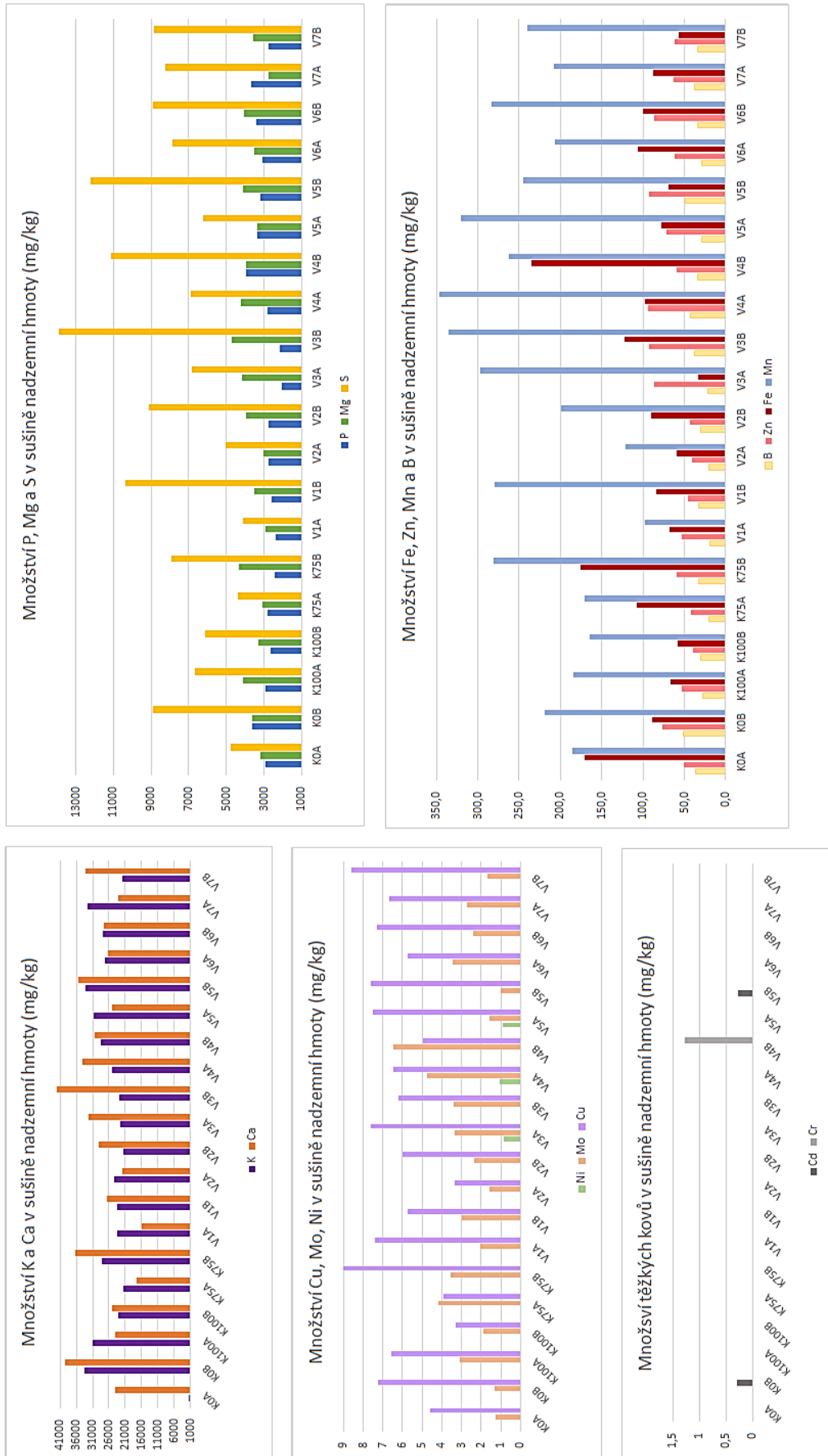
Hodnota s nejvyšším obsahem Zn v sušině byla naměřena ve variantě V4A (93,7 mg/kg). Nejnižší obsah byl u varianty K100B (39,5 mg/kg v sušině).

Bór byl v inokulovaných variantách více obsažený, než ve variantách, které nebyly inokulovány, kromě případů V4A/B, V7A/B. Nejvíce bóru bylo naměřeno ve vzorku K0B (51,2 mg/kg v sušině), nejméně ve vzorku V1A (19,6 mg/kg v sušině).

Hladiny koncentrace molybdenu v jednotlivých vzorcích byly nepravidelné. Nejméně bylo zjištěno u varianty V5B s obsahem 0,989 mg/kg v sušině. Největší koncentrace Mo v sušině byla u varianty V4B (6,472 mg/kg).

Obsah niklu v sušině byl zjištěn jen u neinokulovaných variant V3A (0,828 mg/kg), V4A (1,040 mg/kg) a V5A (0,887 mg/kg).

Těžké kovy byly nalezeny jen ve variantách s patogenem *P. brassicace*, konkrétně ve K0B, V4B a V5B.



Obrázek 8 Živiny v sušinně nadzemní hmoty (mg/kg).

### 5.1.3.2 Obsahy prvků v sušině kořenů rostlin

Množství živiny v napadených kořenech je skoro ve všech případech vyšší než množství v nenapadených viz obrázek č. 9. Ve všech inokulovaných variantách bylo více makroživin: K, Mg, P a S, z mikroprvků: Zn, Fe a B. U ostatních živin (Ca, Cu a Mn) byl také vyšší obsah v inokulovaných až na určité výjimky. Výjimky byly u K0A, u které byl naměřen vyšší obsah Ca, Cu a Mn než u ekvivalentní inokulované varianty. Také v případě varianty V7A byl naměřen vyšší obsah některých živin, konkrétně Mn a Ca. Větší množství Ca bylo i u varianty K100A nad variantou K100B. Nikl a Molybden nebyly zjištěny ve všech variantách.

Draslíku bylo v sušině kořenů naměřeno nejvíce u vzorků V7B (35236 mg/kg) a K100B (34955 mg/kg). Nejméně ve vzorku V2A, kde byl obsah draslíku 2559 mg/kg v sušině kořenů.

Nejnižší obsah fosforu v sušině kořenů byl ve variantách V1A (625 mg/kg) a V2A (459 mg/kg). Nejvíce ve variantě V5B (5422 mg/kg v sušině).

Vápník stejně jako draslík byl nejméně obsažen u variant V1A a V2A s obsahy 2166 a 1835 mg/kg v sušině. Naopak nejvíce ve variantě V4B 13694 mg/kg Ca v sušině.

Maximálního naměřeného obsahu S v sušině bylo ve vzorku V5B (5907 mg/kg). Minimální hodnota obsahu síry byla naměřena ve V2A (700 mg/kg v sušině) a následně ve V1A (806 mg/kg v sušině).

Největší množství Mg bylo zjištěno ve vzorku V4B s obsahem 2508 mg/kg v sušině a nejméně ve vzorku V1A (303 mg/kg v sušině). Další nízké obsahy hořčíku v sušině byly u variant V2A (500 mg/kg) a K75A (645 mg/kg).

U železa byla naměřena extrémně vysoká hodnota ve vzorku V6B s obsahem 5539 mg/kg Fe v sušině. Další vysoké obsahy byly změřeny u variant V1B (2917 mg/kg v sušině) a V3B (2773 mg/kg v sušině). Nejméně železa v sušině s obsahem 0,91 mg/kg bylo zjištěno ve variantě V5A a také ve V2A (93 mg/kg v sušině).

Mangan byl nejméně obsažený v sušině kořenů u variant V2A a V1A s obsahy 11 a 15 mg/kg. Naopak nejvíc Mn v sušině bylo naměřeno u V6B (179 mg/kg).

V4B obsahovala největší naměřené množství zinku (61,6 mg/kg v sušině). Nejméně Zn v sušině obsahovaly varianty V2A a V1A (6,1 a 13 mg/kg).

Měď dosahovala maximální naměřené hodnoty u varianty V6B s obsahem v sušině kořenů 18,25 mg/kg. Minimální zjištěné hodnoty byly u varianty V1A s obsahem 1,61 mg/kg v sušině a následně u varianty V2A (2,46 mg/kg).

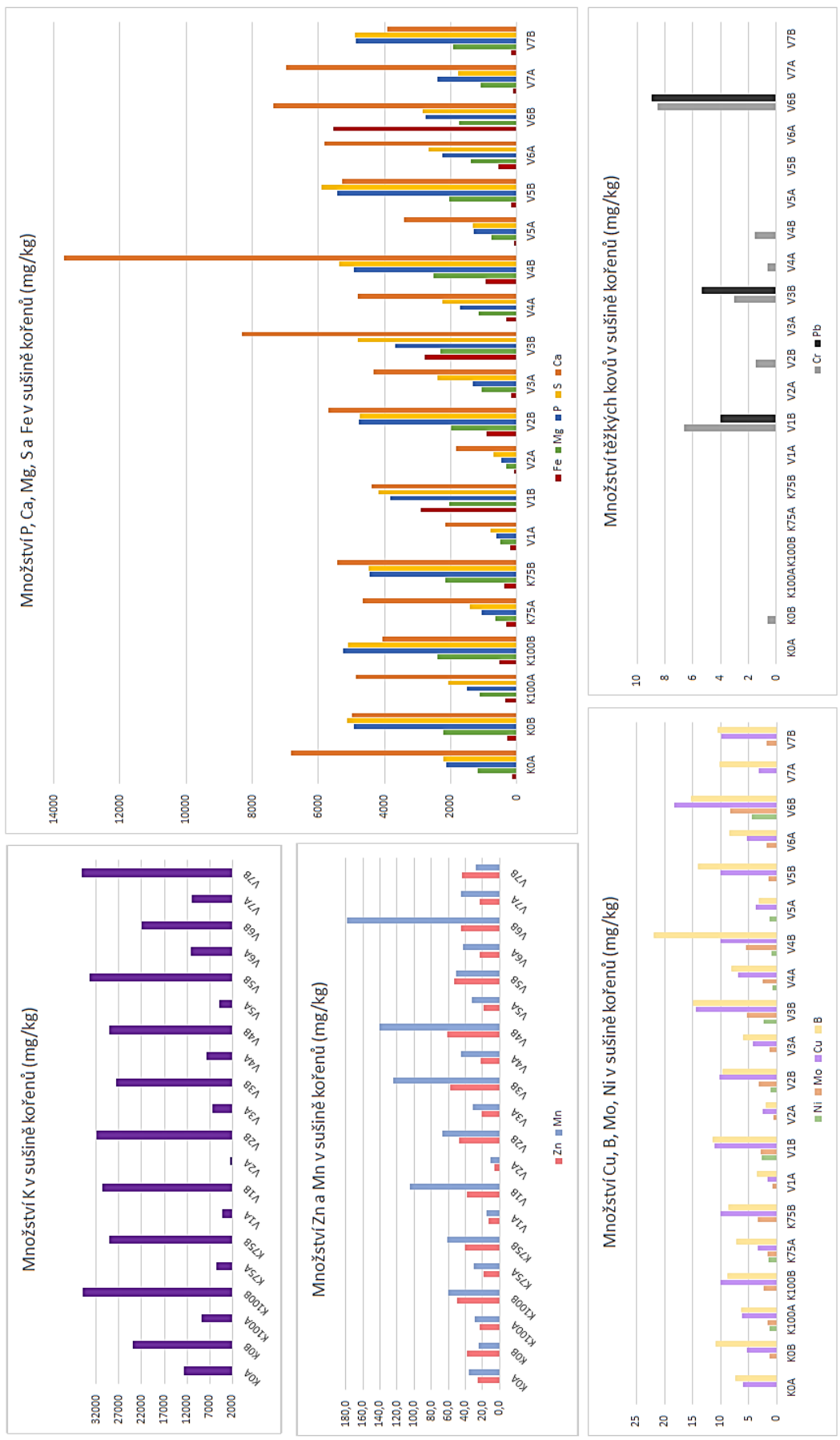
Nejvyšší naměřená hodnota obsahu bóru v sušině kořenů byla u varianty V4B (21,9 mg/kg). Naopak nejnižší byla u varianty V2A (1,8 mg/kg B v sušině) a následně u variant V5A a V1A (3,1 a 3,4 mg/kg B v sušině).

Molybden nebyl zjištěný u variant K0A, V5A a V7A. Nejméně byl naměřen ve variantách V2A (0,657 mg/kg v sušině) a V1A (0,708 mg/kg v sušině).

Největší obsah niklu byl naměřen ve variantě V6B (4,359 mg/kg v sušině). Nejméně ve variantách V4A/B (0,730 a 0,971 mg/kg v sušině). Obsah nebyl zjištěn ve variantách K0A/B, K100B, K75B, V1A, V2A, V3A, V5B, V6A a V7A/B.

Ve variantách, které byly inokulovány byly také zjištěny těžké kovy (Cr a Pb), konkrétně u vzorků: K0B, V1B, V2B, V3B, V4B, V6B. Nejvíce u V6B (8,5515 mg/kg Cr a 8,9276 mg/kg Pb v sušině kořenů). Jediná neinokulovaná varianta V4A měla také naměřený obsah Cr (0,6349 mg/kg v sušině).





Obrázek 9 Živiny v sušiče kořenů (mg/kg).

## 5.2 Hydroponie

Pokus s hydroponií byl vyhodnocen jako pouhé doplnění údajů k pokusu v substrátu. Nešlo provést statistické zhodnocení z důvodu kolísajícího počtu vyrostlých rostlin ve variantách (od 1 do 16 rostlin ve variantě), v tabulce č. 7 je tento trend zaznamenán a barevně jsou vyznačeny extrémy.

Průměry nadzemních částí rostlin ve variantách se pohybovaly od 0,08 g (H\_VA3) do 26,2 g (H\_VA7). Velké výnosy nadzemní hmoty byly pozorovány u nenapadených variant H\_V4A (3 rostliny ve variantě) s průměrem 23,323 g a H\_V7A (2 r. ve var.) s průměrnou hmotností 26,2 g. U varianty H\_V7A, byla zároveň navážena nejvyšší průměrná váha kořenů (6,195 g). I když byl u variant H\_V7A a H\_V4A nejvyšší výnos nadzemní hmoty počet rostlin byl zde jeden z nejnižších.

Naopak nejnižší výnos nadzemních částí rostlin byl u variant HV3A/B (0,08 g a 0,678 g), zároveň i nejnižší hmotnost kořenů (0,01 g a 0,128 g). Počet rostlin byl také nízký v obou variantách H\_V3A/B (1 a 4 r. ve var.). Tam, kde bylo nejvíce rostlin ve variantě, tzn. u H\_K100B (16) a H\_V1B (14), tedy u napadených rostlin, se průměr nadzemní hmoty pohyboval kolem 4,5 g až necelých 5 g.

Vypočten byl ID (%), pouze u variant inokulovaných patogenem *P. brassicae*. ID vyšel i v případě dvou inokulovaných variant H\_V2B a H\_V3B 0 %, stejně tak i průměrný stupeň napadení, byl určen u obou variant 0 – bez napadení, reakce na napadení byla rezistentní (pod 25 %). Varianty H\_V4B a H\_V7B měly nejvyšší hodnoty ID kolem 70 % a průměrný stupeň napadení přibližně 2,1, reakce diagnostikovaných rostlin ve variantách byly náchylné.

Tabulka 7 Výsledky hydroponického pokusu.

Varianta	Počet rostlin ve variantě	Průměry			Index napadení (%)
		Nadzemní část (g)	Kořeny (g)	Stupeň napadení	
H_K100A	10	5,336	0,600		
H_K100B	16	4,473	0,575	1,875	62,50
H_K75A	6	3,285	0,238		
H_K75B	10	5,193	0,634	1,400	46,67
H_V1A	6	10,595	1,303		
H_V1B	14	4,958	0,470	1,071	35,71
H_V2A	6	7,582	1,130		
H_V2B	2	4,820	0,610	0,000	0,00
H_V3A	1	0,080	0,010		
H_V3B	4	0,678	0,128	0,000	0,00
H_V4A	3	23,323	1,940		
H_V4B	10	5,704	0,482	2,100	70,00
H_V5A	3	15,097	2,110		
H_V5B	7	4,183	0,459	1,571	52,38
H_V6A	3	18,193	3,423		
H_V6B	7	6,151	0,656	0,714	23,81
H_V7A	2	26,200	6,195		
H_V7B	7	8,504	1,581	2,143	71,43

## 6 Diskuze

V současné době jsou chemické metody regulace *P. brassicae* na polích málo využívané, velmi toxické pro životní prostředí a ne stoprocentně účinné. Díky rychlému a snadnému šíření patogena z pozemku na pozemek je proto nutné se soustředit i na jiné možnosti ochrany proti chorobě nádorovitosti brukvovitých, kterou způsobuje *Plasmodiophora brassicae*. Klade se důraz na preventivní metody, jednou z nich je i ovlivnění patogena úpravou pH a dodáním živin do půdy, proto bylo za cíl této práce analyzovat ovlivnění rozvoje choroby na univerzálním hostiteli *Brassica campestris* spp. *pekinensis* cv. Granaat pomocí živných roztoků při různých schématech hnojení (Javed et al. 2022).

Kompletní a vyvážená výživa byla vždy jedním z hlavních předpokladů obrany rostlin, díky přímé účasti minerálních prvků na jejich ochraně. Minerální prvky ovlivňují zdraví rostlin přímo modulací aktivity redoxních enzymů nebo zlepšují vitalitu rostlin nepřímo změnou kořenových exudátů a tím změnou dynamiky populací mikroflóry, obsahu živin v rhizosféře půdy, kolísáním pH, ukládáním ligninu a biosyntézou fytoalexinů (Tripathi et al. 2022).

### 6.1 Pokus v substrátu

#### 6.1.1 Kvantitativní parametry

##### 6.1.1.1 Nadzemní váha

V průměrné váze nadzemní hmoty vycházela z hnojených variant nejvýnosnější V5A (13,9 g), která nebyla inokulována. Do této varianty bylo dodáno 0,356250 g N celk. a 0,084375 g S celk. její ekvivalentní inokulovaná varianta V5B nevycházela v průměru také špatně (11,6 g). V pořadí druhé vycházely nejlépe varianty V3A/B, s velmi dobrým průměrem nadzemní váhy 13,5 g a 12,8 g. Těmto variantám byl dodán dusík i síra v největší dávce (0,4275 g N a 0,16875 g S) v pokusu. Podobných výsledků došli i ve studii (Maršić et al. 2021), se zelím (*Brassica oleracea* L. var. *Capitata*), kdy bylo dosaženo nejvyššího výnosu sušiny, také ekonomického výnosu a využití dusíku, při nejvyšší dávce dusíkatého hnojiva v kombinaci se sírou (240 kg/ha N a 40 kg/ha S). Tato varianta v napadeném případě (V3B) vyšla jako třetí nejvýnosnější v průměrné hmotnosti nadzemní biomasy ze všech variant.

Na nadzemní hmotě se, ale v ostatních variantách hnojení neprojevovalo výraznými rozdíly. Jen nehnojené kontrolní varianty K0A/B byly na tom s výnosem nadzemní biomasy podstatně hůř.

Nezbytné je zdůraznit, že během pokusu byly rostliny napadeny housenkami, což vedlo k určitému poškození listů. Nicméně napadení postihlo všechny testované varianty, takže lze říct, že podmínky byly pro všechny varianty srovnatelné.

##### 6.1.1.2 Kořeny

Napadené kořeny v průměru měly vždy vyšší hmotnost ve všech variantách než neinokulované. Důvodem je, že patogen ovlivní hormonální stav rostliny a v kořenech následně auxiny a cytokininy způsobí zvýšenou rychlost dělení a zvětšení buněk, takže kořeny vytvoří

nádory. Nádory zvětšují objem kořenů, jejich váha je pak vyšší než u zdravých kořenů (Saharan et al. 2021a). V pokusu to potvrdily varianty V5A/B a V6A/B. Varianty V5A/B se od sebe váhou kořenů nejméně lišily (rozdíl byl 0,33 g). Důvodem bylo, že ve variantě V5B bylo nejméně napadených kořenů či kořenů s nižším stupněm napadením. Varianty V6A/B měly naopak největší rozdíl mezi hmotnostními průměry o 2,99 g. Tato varianta měla všechny kořeny všech pozorovaných rostlin s nesilnějším stupněm napadením (3).

### 6.1.2 Napadení kořenů patogenem *P. brassicae*

Náborovitost brukvovitých způsobená patogenem *Plasmodiophora brassicae*, je ovlivněna dusíkem (Laperche et al. 2017). Hnojení dusíkem je již dlouhou dobu studováno v souvislosti s jeho vlivem na různé choroby rostlin. Obecně vzato N negativně ovlivňuje fyzikální obranu rostliny spolu s produkcí antimikrobiálních sloučenin, ale významně zmírňuje hladiny enzymů souvisejících s obranou (Tripathi et al. 2022). Často se spíše předpokládá, že nadměrné množství dusíku má tendenci podporovat závažnost symptomů choroby, je však i zaznamenán opačný přístup a neplatí tu žádná obecná zákonitost pro všechny patosystémy – liší se v závislosti na konkrétním izolátu *P. brassicae* a genotypu *Brassica spp.* Hnojení může nepřímo ovlivňovat signální dráhy v rostlinách a oslabovat nebo podporovat obranné reakce rostliny. Stav dusíku v rostlině má vliv na buněčnou fyziologii patogena. Rozpory v různých studiích ohledně nízké či vysoké dávky hnojení, tak mohou být i ovlivněny podmínkami ve kterých je pokus prováděn – pole, skleníky nebo růstová místnost (Laperche et al. 2017; Gazengel et al. 2021; Aigu et al. 2022). V této studii bylo vyzorováno, že stupně napadení nekorelovaly s množstvím dodaného dusíku. Pravděpodobně to ovlivnily různé dávky síry. Síra může zvýšit odolnost zemědělských plodin proti patogenům (Bloem et al. 2004).

Negativně binomické rozdělení dat ukázalo, že varianty se od sebe liší. Nejvíce se podle indexu napadení (tabulka č. 6) a histogramů (obrázek č. 7) lišila varianta V5B, kde bylo nejméně napadených rostlin, či rostlin s nižším napadením. To potvrzoval i index napadení, který vyšel 62,5 %, ale nedostal se pod hranici náchylné reakce 50 %. Do této varianty bylo dodáno druhé nejvyšší množství dusíku (0,35625 g) a nejnižší množství síry (0,084375 g). Nejvíce napadené varianty, ve kterých byly veškeré rostliny vyhodnoceny jako silně napadené (stupeň 3) a index napadení vyšel u všech 100 %, byly: V2B, V3B a V6B (každá z variant měla odlišné dávky dusíku i síry).

### 6.1.3 Obsahy živin v sušině rostlin

V této studii nebyl změřen obsah dusíku v nadzemní hmotě a kořenech z důvodu nedostupnosti přístrojů a látek k provedení této analýzy. Proto by bylo dobré v dalších podobných pokusech změřit obsahy dusíku a to zvláště v kořenech, protože ovlivňuje *P. brassicae* (Laperche et al. 2017).

V nadzemní části rostlin nebyly dosaženy tak zajímavé výsledky v obsahu živin jako u kořenů. Velmi nízké obsahy všech živin v sušině kořenů byly zaznamenány u nenapadených variant V2A a V1A. Obecně byl zaznamenán vyšší obsah všech živin u ekvivalentní varianty napadené patogenem než u nenapadené (u Ca, Cu a Mn byly opačné výjimky). Tento jev lze

přičíst zvýšenému množství cytokininů v napadených kořenech, které přitahují živiny do infikovaných jak uvádí (Prerostova et al. 2018).

Podmínkou klíčení spor v první fázi životního cyklu, jak uvádí (Shogo et al. 1991), je uvolňování  $\text{Ca}^{2+}$  ze spor a jejich zpětná adsorpce, může to být důvodem zvýšeného množství vápníku u napadených kořenů, který byl prokázán u všech variant, kromě K0A/B a K100A/B. Rozdíly v množství vápníku obsaženého v sušině napadených kořenů byly v některých variantách opravdu výrazné, zvláště u variant V4A/B (rozdíl o 8888 mg/kg Ca v sušině kořenů).

Vápník také, ale může potlačovat rozvoj choroby, odezva však závisí i na určitém množství bóru. Pokud chybí bór je potlačena schopnost vápenatých iontů. V našem případě byl také ve všech variantách s patogenem vyšší obsah bóru, ale nádory potlačeny nebyly, nejspíš kvůli nižšímu obsahu dodaného vápníku (Donald a Porter 2009; Palm 1963).

Všechny inokulované varianty měly zvýšený obsah draslíku v kořenech oproti neinokulovaným variantám, nejspíš kvůli tomu, že pokud je K přítomen v dostatečné koncentraci, může zvýšit koncentraci polyfenolických látek v rostlině, které hrají rozhodující roli v obranném mechanismu (Tripathi et al. 2022). Jiná studie (Palm 1963), také naznačuje, že dodávání draslíku po infekci patogenem podporuje tvorbu hálek.

V případě fosforu není pozorována výrazná role v odolnosti rostlin vůči chorobám. Jeho vysoký obsah však může zvýšit náchylnost vůči patogenovi, v pokusu byl (v kořenech) obsah fosforu ve všech napadených variantách výrazně vyšší, což toto tvrzení může podporovat. Také zvýšený obsah zinku byl zjištěn u inokulovaných variant ve všech případech oproti neinokulovaným. Může to souviset s tím, že zinek je součástí enzymů, které se podílejí na syntéze auxinů, infekčnosti, produkci fyto toxinů a mykotoxinů u patogenních mikroorganismů (Tripathi et al. 2022).

Glukosinoláty, které mají vliv na fenotyp nádoru obsahují atomy N a S. Síra může ovlivnit formy GLS, ve studii (Maršić et al. 2021) bylo cílem zjistit vliv hnojení dusičnanem amonným (0, 180 a 240 kg/ha N) a síranem vápenatým (0 a 40 kg/ha). Zjistili, že při vyšších dávkách dusíku ( $\text{N}_{240}$ ) a síry ( $\text{S}_{40}$ ) se zvětšuje podíl alifatických GLS (podíl 80 – 85 %), například progoitrin. Konkrétně, bylo ale nejvíce progoitrinu ve variantě s vysokým obsahem síry a sníženým obsahem dusíku. Při vysokém obsahu dodaného dusíku se snižoval podíl indolových GLS, např. glukobrassicin, a nebyly závislé na hladinách hnojení sírou. Navíc progoitrin je znám, že symptomy choroby potlačuje a glukobrassicin je naopak podporuje (Kayum et al. 2020; Maršić et al. 2021; Aigu et al. 2022).

U všech variant byla síra více obsažená v napadených variantách ve výrazně vyšších koncentracích, až na varianty V6A/B, kde obsah síry v sušině kořenů byl velmi podobný, tato varianta byla silně napadená. Je to možná z důvodu zvýšeného obsahu GLS v kořenech. Nejvíce síry v sušině kořenů bylo u inokulované varianty V5B, která byla nejméně napadená. Je ovšem zajímavé, že i když měla vysoký podíl v sušině kořenů, dávka síry v podobě živného roztoku byla nejnižší (0,084375 g S celkem), to ovšem nekoresponduje s daty výše uvedenými a důvodem může být, napadení rostlin patogenem (Velíšek 2002b; Saharan et al. 2021a).

Pro další výzkum by bylo vhodné zjistit, jak různé dávky dusíku a síry ovlivňují skladbu glukosinolátů v kořenech infikovaných rostlin. Zda převažují GLS, které podporují symptomy nemoci, nebo ty, které je naopak potlačují (Kayum et al. 2020; Maršić et al. 2021; Aigu et al. 2022).

Těžké kovy byly, jak v nadzemní, tak podzemní hmotě rostlin zjištěny jen ve variantách s napadením, až na variantu V4A, kde byl naměřený obsah chromu v kořenech. Jak v nadzemní biomase, tak kořenech byl nalezen chrom, ale olovo pouze v kořenech a kadmium jen v nadzemní části. Mohlo by to mít za důvod narušení kořenů deformací, příjmu živin a změna exsudátů kořenů (fytohormony např.) a s tím i změnu pH patogenem *P. brassicae* zvýšený příjem těchto těžkých kovů a ukládáním do biomasy rostliny. Také se ale ukazuje, že akumulace těžkých kovů v rostlinných pletivech může být využita jako účinný mechanismus proti zejména biotickým stresům, vzhledem k tomu, že mohou být toxické nejen pro rostlinu samotnou ale i pro rostlinné patogeny a konzumety. Tyto neesenciální kovy jako je arsen (As), kadmium (Cd), chrom (Cr), rtuť (Hg) a olovo (Pb), mohou do rostlin pronikat prostřednictvím přenašečů určených pro esenciální prvky. I v nízkých koncentracích mohou v buňce vyvolat tvorbu reaktivních forem kyslíku (ROS), což vede k poškození různých složek rostliny (proteinů, lipidů, sacharidů a DNA). V průběhu dlouhodobé evoluce si však rostliny vyvinuly mechanismy, jak tyto škodlivé kovy využít, aby odolaly vnějšímu stresu, to může být i důvodem u zvýšené akumulace kovu ve studovaných variantách (Stefanowicz et al. 2021; Zhang et al. 2024).

Zjištěné údaje o akumulaci těžkých kovů, jak v nadzemní, tak podzemní části rostlin převažujících v napadených rostlinách, jsou impulzem pro další studie. Navrhuje se zaměřit se na vliv infikovaných rostlin rodu *Brassica* spp. na lidské zdraví. Mohlo by to přispět k pochopení možných rizik spojených s konzumací těchto rostlin, s cílem dodržovat maximální limity pro olovo a kadmium, jak stanovuje (Evropská komise 2023)

## 6.2 Hydroponie

Pokus byl nejdříve proveden v hydroponické kultivační sadě, zde selhal pokus na výplňovém materiálu. Proto byl opakován s přidáním varianty bez hnojení v substrátu. Výsledky z hydroponického pozorování nejsou v této diskusi zásadní, neboť zahrnují pouze malý počet rostlin v jednotlivých variantách.

Stále existuje mnoho faktorů ovlivňujících složitý vztah mezi hostitelem, patogenem a živinami, které dosud nebyly plně objasněny. Tato studie přispěla k lepšímu porozumění těmto vztahům, a to jak prostřednictvím zkoumání vlivu přídavku hnojiv na patogena, tak prostřednictvím posílení odolnosti rostlin. Tyto poznatky poskytují cenný základ pro další výzkum v oblasti interakcí mezi rostlinami, patogeny a živinami, a mohou vést k významným pokrokům v zemědělské praxi a ochraně rostlin.

## 7 Závěr

Diplomová práce se zabírala vlivem výživy na rozvoj nádorovitosti kořenů brukvovitých způsobené patogenem *Plasmodiophora brassicae*. Cílem bylo zhodnotit dopad výživy zejména pak dusíku a síry na rozvoj onemocnění nádorovitosti brukvovitých. Za tímto účelem byl vypracován pokus nejdříve v hydroponii, který selhal z důvodu technologie provedení a následně byl založen pokus v substrátu, který přinesl zajímavé výsledky.

Byl zhodnocen vliv výživy dusíkem a sírou na rozvoj choroby způsobené *P. brassicae*. Výsledky zkoumání nepotvrdily hypotézu, která přepokládala existenci statisticky významného rozdílu v napadení patogenem *P. brassicae* při různých schématech hnojení. Na základě výstupů další analýzy byla zjištěna průkaznost, že varianty se od sebe liší. Nejvíce se lišila inokulovaná varianta V5B, která měla nejméně rostlin napadených a s nižším stupněm napadení z všech inokulovaných variant. Index napadení také potvrdil relativně nízkou míru napadení ve variantě V5B (62,5 %), ale i tak se nedostala varianta pod stanovenou hranici 50 % a reakce varianty byla náchylná, jako u všech ostatních inokulovaných variant.

Ve výnosu nadzemní hmoty vycházela varianta V5B velmi dobře, jako pátá nejvýnosnější z dvaceti a její ekvivalentní varianta (V5A), která byla patogena prostá vycházela statisticky prokazatelně nejlépe ze všech variant. Do variant V5A/B bylo dodáno 0,356250 g N celk. a 0,084375 g S celk.

Výsledky práce ukazují na důležitou roli výživy brukvovitých rostlin při obraně proti biotrofnímu patogenovi *P. brassicae*. Vztah mezi rostlinou, patogenem a výživou je velmi provázaný a pokus tak přispěl k pochopení dalších vztahů na univerzálním náchylném hostiteli *Brassica campestris* spp. *pekinensis* cv. Granaat. Studie byla omezena množstvím analytických přístrojů k prozkoumání hlubších interakcí, ať už jakou roli hráli jednotlivé fytohormony, glukosinoláty v různých schématech hnojení.

## 8 Seznam literatury

AIGU, Y., S. DAVAL, K. GAZENGEL, N. MARNET, Ch. LARIAGON, A. LAPERCHE, F. LEGEAI, M. J. MANZANARES-DAULEUX a A. GRAVOT, 2022. Multi-Omic Investigation of Low-Nitrogen Conditional Resistance to Clubroot Reveals Brassica napus Genes Involved in Nitrate Assimilation. *Frontiers in Plant Science* [online]. **13**, 790563 [vid. 2024-03-13]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2022.790563

AIST, J. R. a P. H. WILLIAMS, 1971. The cytology and kinetics of cabbage root hair penetration by Plasmodiophora brassicae. *Canadian Journal of Botany* [online]. **49**(11), 2023–2034 [vid. 2024-01-22]. ISSN 0008-4026. Dostupné z: doi:10.1139/b71-284

ANJUM, N. A., S. S. GILL, I. AHMAD, M. PACHECO, A. C. DUARTE, S. UMAR, N. A. KHAN a M. E. PEREIRA, 2012. The Plant Family Brassicaceae: An Introduction. In: N. A. ANJUM, I. AHMAD, M. E. PEREIRA, A. C. DUARTE, S. UMAR a N. A. KHAN, ed. *The Plant Family Brassicaceae: Contribution Towards Phytoremediation* [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, Environmental Pollution, s. 1–33 [vid. 2024-01-25]. ISBN 978-94-007-3913-0. Dostupné z: doi:10.1007/978-94-007-3913-0\_1

AUER, S. a J. LUDWIG-MÜLLER, 2015. Biological control of clubroot (Plasmodiophora brassicae) by the endophytic fungus Acremonium alternatum. *Journal of Endocytobiosis and Cell Research*. **26**, 43–49.

BLOEM, E., A. RIEMENSCHNEIDER, J. VOLKER, J. PAPENBROCK, A. SCHMIDT, Ioana SALAC, Silvia HANEKLAUS a Ewald SCHNUG, 2004. Sulphur supply and infection with Pyrenopeziza brassicae influence L-cysteine desulphydrase activity in Brassica napus L. *Journal of Experimental Botany* [online]. **55**(406), 2305–2312. ISSN 0022-0957. Dostupné z: doi:10.1093/jxb/erh236

BONES, A. a J. ROSSITER, 1996. The myrosinase-glucosinolate system, its organisation and biochemistry. *Physiologia Plantarum* [online]. **97**, 194–208. Dostupné z: doi:10.1111/j.1399-3054.1996.tb00497.x

BOTTI, M. G., M. G. TAYLOR a N. P. BOTTING, 1995. Studies on the mechanism of myrosinase. Investigation of the effect of glycosyl acceptors on enzyme activity. *The Journal of Biological Chemistry* [online]. **270**(35), 20530–20535. ISSN 0021-9258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.270.35.20530

BOUMA, D., 2016. Nádorovitosti kořenů brukvovitých se chce dále věnovat | Uroda.cz - Informace o rostlinné výrobě pro zemědělské odborníky. <https://uroda.cz/> [online] [vid. 2024-03-09]. Dostupné z: <https://uroda.cz/nadorovitosti-korenu-brukvovitych-se-chce-dale-venovat/>

BOUMA, D., 2021. Pokusy s odrůdami řepky s rezistencí k Plasmodiophora brassicae | Uroda.cz - Informace o rostlinné výrobě pro zemědělské odborníky. <https://uroda.cz/> [online] [vid. 2024-03-09]. Dostupné z: <https://uroda.cz/pokusy-s-odrūdami-repky-s-rezistenci-k-plasmodiophora-brassiccae/>



BUCZACKI, S. T., H. TOXOPEUS, P. MATTUSCH, T. D. JOHNSTON, G. R. DIXON a L. A. HOBOLTH, 1975. Study of physiologic specialization in *Plasmodiophora brassicae*: Proposals for attempted rationalization through an international approach. *Transactions of the British Mycological Society* [online]. **65**(2), 295–303 [vid. 2023-10-06]. ISSN 0007-1536. Dostupné z: doi:10.1016/S0007-1536(75)80013-1

CASTRO-TORRES, I. G., V. A. CASTRO-TORRES, M. HERNÁNDEZ-LOZANO, E. B. NARANJO-RODRÍGUEZ a M. Á. DOMÍNGUEZ-ORTIZ, 2020. Chapter 4 - Glucosinolates and metabolism. In: Ch. M. GALANAKIS, ed. *Glucosinolates: Properties, Recovery, and Applications* [online]. B.m.: Academic Press, s. 107–141 [vid. 2024-04-02]. ISBN 978-0-12-816493-8. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-816493-8.00004-4

ČESKÝ STATISTICKÝ ÚŘAD, 2023. *Veřejná databáze* [online]. 2023. [vid. 2024-04-02]. Dostupné z: [https://vdb.czso.cz/vdbvo2/faces/cs/index.jsf?page=vystup-objekt&pvo=ZEM02A&z=T&f=TABULKA&skupId=346&katalog=30840&pvo=ZEM02A&evo=v2266\\_!\\_ZEM02A-2023T\\_1#w%5Bk%5D=metainfo&w%5Bp%5D%5Bident%5D=1128582957&w%5Bp%5D%5Bpodpis%5D=463e330843514f457b5a1bbbd2e1d848&w%5Bp%5D%5BtypInk%5D=INT\\_HODNOTAMETAINFO&w%5Bp%5D%5Bcele%5D=IyMjLCMjIywjIzA%3D&w%5Bp%5D%5Breal%5D=IyMjLCMjIywjIzA%3D&w%5Bp%5D%5Bdate%5D=&w%5Bp%5D%5Bpvo%5D=ZEM02A&w%5Bp%5D%5Bverze%5D=-1&w%5Bp%5D%5Bnahled%5D=N&w%5Bp%5D%5Bpvokc%5D=&w%5Bp%5D%5Bpvoc h%5D=&w%5Bp%5D%5Bhash%5D=a26983a09ae57d6f46d96e08d60f102320b394bb7b26b1b2b8ab5a2d3b1da874&w%5Bp%5D%5Bcasrazitko%5D=53f6e56b81bd15a50a45917f609b fac55d511a06636855cb5b889dd0c1a4686f&w%5Bp%5D%5Bhash2%5D=&w%5Bp%5D%5BbudIdent%5D=&w%5Bp%5D%5BpoznámkaCislo%5D=null&w%5Bp%5D%5Bkp%5D=false&w%5Bh%5D=](https://vdb.czso.cz/vdbvo2/faces/cs/index.jsf?page=vystup-objekt&pvo=ZEM02A&z=T&f=TABULKA&skupId=346&katalog=30840&pvo=ZEM02A&evo=v2266_!_ZEM02A-2023T_1#w%5Bk%5D=metainfo&w%5Bp%5D%5Bident%5D=1128582957&w%5Bp%5D%5Bpodpis%5D=463e330843514f457b5a1bbbd2e1d848&w%5Bp%5D%5BtypInk%5D=INT_HODNOTAMETAINFO&w%5Bp%5D%5Bcele%5D=IyMjLCMjIywjIzA%3D&w%5Bp%5D%5Breal%5D=IyMjLCMjIywjIzA%3D&w%5Bp%5D%5Bdate%5D=&w%5Bp%5D%5Bpvo%5D=ZEM02A&w%5Bp%5D%5Bverze%5D=-1&w%5Bp%5D%5Bnahled%5D=N&w%5Bp%5D%5Bpvokc%5D=&w%5Bp%5D%5Bpvoc h%5D=&w%5Bp%5D%5Bhash%5D=a26983a09ae57d6f46d96e08d60f102320b394bb7b26b1b2b8ab5a2d3b1da874&w%5Bp%5D%5Bcasrazitko%5D=53f6e56b81bd15a50a45917f609b fac55d511a06636855cb5b889dd0c1a4686f&w%5Bp%5D%5Bhash2%5D=&w%5Bp%5D%5BbudIdent%5D=&w%5Bp%5D%5BpoznámkaCislo%5D=null&w%5Bp%5D%5Bkp%5D=false&w%5Bh%5D=)

DALTON, J., 2016. *Effect of Plasmodiophora brassicae resting spore concentration and crop rotation on growth of clubroot-resistant crops* [online]. B.m. [vid. 2024-03-13]. University of Guelph. Dostupné z: <http://hdl.handle.net/10214/9515>

DE PIETRI-TONELLI, P., 1950. A Contribution to Knowledge of the Biology of *C. pleurostigma*. *Redia* [online]. **35** [vid. 2024-01-15]. ISSN 0370-4327. Dostupné z: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19530500332>

DE VIENNE, D. M., 2016. Lifemap: Exploring the Entire Tree of Life. *PLOS Biology* [online]. **14**(12), e2001624 [vid. 2024-03-09]. ISSN 1545-7885. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pbio.2001624

DEVOS, S., K. VISSENBERG, J.-P. VERBELEN a E. PRINSEN, 2005. Infection of Chinese cabbage by *Plasmodiophora brassicae* leads to a stimulation of plant growth: impacts on cell wall metabolism and hormone balance. *New Phytologist* [online]. **166**(1), 241–250 [vid. 2024-01-11]. ISSN 1469-8137. Dostupné z: doi:10.1111/j.1469-8137.2004.01304.x

DIXON, G. R., 2009. *Plasmodiophora brassicae* in its Environment. *Journal of Plant Growth Regulation* [online]. **28**(3), 212–228 [vid. 2023-10-06]. ISSN 1435-8107. Dostupné z: doi:10.1007/s00344-009-9098-3

DIXON, G. R., 2017. Managing clubroot disease (caused by *Plasmodiophora brassicae* Wor.) by exploiting the interactions between calcium cyanamide fertilizer and soil microorganisms. *The Journal of Agricultural Science* [online]. **155**(4), 527–543 [vid. 2024-03-23]. ISSN 0021-8596, 1469-5146. Dostupné z: doi:10.1017/S0021859616000800

DJAVAHERI, M., L. MA, D. F. KLESSIG, A. MITHÖFER, G. GROPP a H. BORHAN, 2019. Mimicking the Host Regulation of Salicylic Acid: A Virulence Strategy by the Clubroot Pathogen *Plasmodiophora brassicae*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*® [online]. **32**(3), 296–305 [vid. 2024-03-25]. ISSN 0894-0282. Dostupné z: doi:10.1094/MPMI-07-18-0192-R

DOBSON, R. L. a R. L. GABRIELSON, ed., 1983. Role of primary and secondary zoospores of *Plasmodiophora brassicae* in the development of clubroot in Chinese cabbage. *PHYTOPATHOLOGY*.

DONALD, C. a I. PORTER, 2009. Integrated Control of Clubroot. *Journal of Plant Growth Regulation* [online]. **28**(3), 289–303 [vid. 2024-03-25]. ISSN 1435-8107. Dostupné z: doi:10.1007/s00344-009-9094-7

DONALD, E. C. a I. J. PORTER, 2014. Clubroot in Australia: the history and impact of *Plasmodiophora brassicae* in Brassica crops and research efforts directed towards its control. *Canadian Journal of Plant Pathology* [online]. **36**(sup1), 66–84 [vid. 2024-04-03]. ISSN 0706-0661. Dostupné z: doi:10.1080/07060661.2013.873482

EVROPSKÁ KOMISE, 2023. *Narizení Komise (EU) 2023/915 ze dne 25. dubna 2023 o maximálních limitech některých kontaminujících látek v potravinách a o zrušení narizení (ES) č. 1881/2006* [online]. 25. květen 2023. [vid. 2024-04-13]. Dostupné z: <https://esipa.cz/sbirka/sbsrv.dll/sb?DR=SB&CP=32023R0915>

EXCEL, 2007. *Microsoft Office Excel*. release SP2. 2007. USA: Microsoft office Enterprise.

FAHEY, J. W., A. T. ZALCMANN a P. TALALAY, 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* [online]. **56**(1), 5–51. ISSN 0031-9422. Dostupné z: doi:10.1016/s0031-9422(00)00316-2

FAO, 2024. *FAOSTAT - Food and Agriculture Organization of The United Nations* [online] [vid. 2024-04-02]. Dostupné z: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>

FENG, J., R. HWANG, S. F. HWANG, S. E. STRELKOV, B. D. GOSSEN, Q.-X. ZHOU a G. PENG, 2010. Molecular characterization of a serine protease Pro1 from *Plasmodiophora brassicae* that stimulates resting spore germination. *Molecular Plant Pathology* [online]. **11**(4), 503–512 [vid. 2024-03-09]. ISSN 1464-6722. Dostupné z: doi:10.1111/j.1364-3703.2010.00623.x

FENG, L., B. WU, S. CHEN, Ch. ZHANG a Y. HE, 2022. Application of visible/near-infrared hyperspectral imaging with convolutional neural networks to phenotype aboveground parts to detect cabbage *Plasmodiophora brassicae* (clubroot). *Infrared Physics & Technology* [online]. **121**, 104040 [vid. 2024-03-23]. ISSN 1350-4495. Dostupné z: doi:10.1016/j.infrared.2022.104040

FRIBERG, H., J. LAGERLÖF a B. RÄMERT, 2005. Germination of Plasmodiophora brassicae resting spores stimulated by a non-host plant. *European Journal of Plant Pathology* [online]. **113**(3), 275–281 [vid. 2024-03-26]. ISSN 1573-8469. Dostupné z: doi:10.1007/s10658-005-2797-0

GALINDO-GONZÁLEZ, L., S.-F. HWANG a S. E. STRELKOV, 2021. Candidate Effectors of Plasmodiophora brassicae Pathotype 5X During Infection of Two Brassica napus Genotypes. *Frontiers in Microbiology* [online]. **12** [vid. 2024-03-25]. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2021.742268

GAZENDEL, Kévin, Yoann AIGU, Christine LARIAGON, Mathilde HUMEAU, Antoine GRAVOT, Maria J. MANZANARES-DAULEUX a Stéphanie DAVAL, 2021. Nitrogen Supply and Host-Plant Genotype Modulate the Transcriptomic Profile of Plasmodiophora brassicae. *Frontiers in Microbiology* [online]. **12**, 701067 [vid. 2024-03-13]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2021.701067

GOSSEN, B. D., F. AL-DAOUD, T. DUMONCEAUX, J. A. DALTON, G. PENG, D. PAGEAU a M. R. MCDONALD, 2019. Comparison of techniques for estimation of resting spores of Plasmodiophora brassicae in soil. *Plant Pathology* [online]. **68**(5), 954–961 [vid. 2024-03-23]. ISSN 1365-3059. Dostupné z: doi:10.1111/ppa.13007

GRAF, H., M FÄHLING a J. SIEMENS, 2004. Chromosome Polymorphism of the Obligate Biotrophic Parasite Plasmodiophora brassicae. *Journal of Phytopathology* [online]. **152**(2), 86–91 [vid. 2024-01-11]. ISSN 1439-0434. Dostupné z: doi:10.1046/j.1439-0434.2003.00805.x

GREER, S. F., A. SURENDRAN, M. GRANT a R. LILLYWHITE, 2023. The current status, challenges, and future perspectives for managing diseases of brassicas. *Frontiers in Microbiology* [online]. **14**, 1209258 [vid. 2024-04-03]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2023.1209258

GUNETTI, M., S. CASTIGLIA, D. RUSTICHELLI, K. MARESCHI, F. SANAVIO, M. MURARO, E. SIGNORINO, L. CASTELLO, I. FERRERO a F. FAGIOLI, 2012. Validation of analytical methods in GMP: the disposable Fast Read 102® device, an alternative practical approach for cell counting. *Journal of Translational Medicine* [online]. **10**, 112 [vid. 2024-03-24]. ISSN 1479-5876. Dostupné z: doi:10.1186/1479-5876-10-112

HE, P., W. CUI, S. MUNIR, P. HE, X. LI, Y. WU, X. YANG, P. TANG a Y. HE, 2019. Plasmodiophora brassicae root hair interaction and control by Bacillus subtilis XF-1 in Chinese cabbage. *Biological Control* [online]. **128**, 56–63 [vid. 2024-03-09]. ISSN 1049-9644. Dostupné z: doi:10.1016/j.biocontrol.2018.09.020

HŇÁTEK, J., 2019. Nová metoda ochrany proti Plasmodiophora brassicae - původci nádorovitosti košťálovin. *Agromanuál.cz* [online] [vid. 2024-01-25]. Dostupné z: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/choroby/nova-metoda-ochrany-proti-plasmodiophora-brassicae-puvodci-nadorovitosti-kostalovin>

HŇÁTEK, J., 2020. *Nové postupy ochrany proti Plasmodiophora brassicae - poloprovozní testy* [online] [vid. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/choroby/nove-postupy-ochrany-proti-plasmodiophora-brassicae-poloprovozni-testy>

- HWANG, S. F., H. U. AHMED, Q. ZHOU, G. D. TURNBULL, S. E. STRELKOV, B. D. GOSSEN a G. PENG, 2015. Effect of host and non-host crops on *Plasmodiophora brassicae* resting spore concentrations and clubroot of canola. *Plant Pathology* [online]. **64**(5), 1198–1206 [vid. 2024-03-26]. ISSN 1365-3059. Dostupné z: doi:10.1111/ppa.12347
- HWANG, S.F., H.U. AHMED, Q. ZHOU, H. FU, G.D. TURNBULL, R. FREDUA-AGYEMAN, S.E. STRELKOV, B. D. GOSSEN a G. PENG, 2019. Influence of resistant cultivars and crop intervals on clubroot of canola. *Canadian Journal of Plant Science* [online]. **99**(6), 862–872 [vid. 2024-03-26]. ISSN 0008-4220. Dostupné z: doi:10.1139/cjps-2019-0018
- HWANG, S.-F., R. J. HOWARD, S. E. STRELKOV, B. D. GOSSEN a G. PENG, 2014. Management of clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) on canola (*Brassica napus*) in western Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology* [online]. **36**(sup1), 49–65 [vid. 2024-03-25]. ISSN 0706-0661. Dostupné z: doi:10.1080/07060661.2013.863806
- HWANG, S.-F., S. E. STRELKOV, J. FENG, B. D. GOSSEN a R. J. HOWARD, 2011. *Plasmodiophora brassicae*: a review of an emerging pathogen of the Canadian canola (*Brassica napus*) crop. *Molecular Plant Pathology* [online]. **13**(2), 105–113 [vid. 2024-01-22]. ISSN 1464-6722. Dostupné z: doi:10.1111/j.1364-3703.2011.00729.x
- CHOONGHOE, K., Ch. WONDAE a K. HONGMO, 2000. Distribution of *Plasmodiophora brassicae* causing clubroot disease of Chinese cabbage in soil. *Plant Disease Research* [online]. **6**(1), 27–32 [vid. 2024-01-23]. ISSN 1226-1203. Dostupné z: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20013182637>
- IKEGAMI, H., H. MUKOBATA a T. NAIKI, 1978. Scanning Electron Microscopy of *Plasmodiophora brassicae* in Diseased Root Cells of Turnip and Chinese Cabbage. *Japanese Journal of Phytopathology* [online]. **44**(4), 456–464. Dostupné z: doi:10.3186/jjphytopath.44.456
- INGRAM, D. S., I. C. TOMMERUP a P. W. BRIAN, 1997. The life history of *Plasmodiophora brassicae* Woron. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences* [online]. **180**(1058), 103–112 [vid. 2024-03-26]. Dostupné z: doi:10.1098/rspb.1972.0008
- JANDA, M., 2018. V obraně rostlin mají i hormony své místo. *Časopis Vesmír* [online]. **97**(3) [vid. 2024-01-11]. Dostupné z: <https://vesmir.cz/cz/casopis/archiv-casopisu/2018/cislo-3/v-obrane-rostlin-maji-hormony-sve-misto.html>
- JÄSCHKE, D., D. DUGASSA-GOBENA, P. KARLOVSKY, S. VIDAL a J. LUDWIG-MÜLLER, 2010. Suppression of clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) development in *Arabidopsis thaliana* by the endophytic fungus *Acremonium alternatum*. *Plant Pathology* [online]. **59**(1), 100–111 [vid. 2024-04-08]. ISSN 1365-3059. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-3059.2009.02199.x
- JAVED, M. A., A. SCHWELM, N. ZAMANI-NOOR, R. SALIH, M. SILVESTRE VAÑÓ, J. WU, M. GONZÁLEZ GARCÍA, T. M. HEICK, Ch. LUO, P. PRAKASH a E. PÉREZ-LÓPEZ, 2022. The clubroot pathogen *Plasmodiophora brassicae*: A profile update. *Molecular Plant Pathology* [online]. **24**(2), 89–106 [vid. 2024-01-15]. ISSN 1464-6722. Dostupné z: doi:10.1111/mpp.13283

- JAYASINGHEGE, Ch., J. A. OZGA, V. P. MANOLII, S.-F. HWANG a S. E. STRELKOV, 2023. Impact of Susceptibility on Plant Hormonal Composition during Clubroot Disease Development in Canola (*Brassica napus*). *Plants* [online]. **12**(16), 2899 [vid. 2024-04-07]. ISSN 2223-7747. Dostupné z: doi:10.3390/plants12162899
- JI, R., S. GAO, Q. BI, Y. WANG, M. LV, W. GE a H. FENG, 2021. The Salicylic Acid Signaling Pathway Plays an Important Role in the Resistant Process of *Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis* to *Plasmodiophora brassicae* Woronin. *Journal of Plant Growth Regulation* [online]. **40**(1), 405–422 [vid. 2024-03-07]. ISSN 1435-8107. Dostupné z: doi:10.1007/s00344-020-10105-4
- JURSÍK, M., J. HOLEC, P. HAMOUZ a J. SOUKUP, 2018. *Biologie a regulace plevelů*. první. České Budějovice: Kurent, s.r.o. ISBN 978-80-87111-71-0.
- KAGEYAMA, K. a T. ASANO, 2009. Life Cycle of *Plasmodiophora brassicae*. *Journal of Plant Growth Regulation* [online]. **28**(3), 203–211 [vid. 2024-01-15]. ISSN 1435-8107. Dostupné z: doi:10.1007/s00344-009-9101-z
- KALA, Ch., S. S. ALI, N. AHMAD, S. JAMAL GILANI a N. ALI KHAN, 2018. Isothiocyanates: a review. *Research Journal of Pharmacognosy* [online]. **5**(2), 71–89 [vid. 2024-03-07]. ISSN 2345-4458. Dostupné z: doi:10.22127/rjp.2018.58511
- KAPLAN, Z., 2019. *Klíč ke květeně České republiky*. 2. vyd. Praha: Academia. ISBN 978-80-200-2660-6.
- KAYUM, M. A., U. K. NATH, J.-I. PARK, M. HOSSAIN, H.-T. KIM, H.-R. KIM a I.-S. NOU, 2020. Glucosinolate profile and Myrosinase gene expression are modulated upon *Plasmodiophora brassicae* infection in cabbage. *Functional Plant Biology* [online]. **48**(1), 103–118 [vid. 2023-02-11]. ISSN 1445-4416, 1445-4416. Dostupné z: doi:10.1071/FP19278
- KAZDA, J., J. MIKULKA a E. PROKINOVÁ, 2010. *Encyklopedie ochrany rostlin: polní plodiny*. Praha: Profi Press. ISBN 978-80-86726-34-2.
- KOPEC, K., 2004. Jedlé květy pro zpestření jídelníčku – Společnost pro výživu. *Společnost pro výživu* [online] [vid. 2024-01-09]. Dostupné z: <https://www.vyzivaspol.cz/jedle-kvety-pro-zpestreni-jidelnicku/>
- KUGINUKI, Y., H. YOSHIKAWA a M. HIRAI, 1999. Variation in Virulence of *Plasmodiophora brassicae* in Japan Tested with Clubroot-resistant Cultivars of Chinese Cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*). *European Journal of Plant Pathology* [online]. **105**(4), 327–332 [vid. 2024-03-24]. ISSN 1573-8469. Dostupné z: doi:10.1023/A:1008705413127
- LAMPOVÁ, B. a I. DOSKOČIL, 2022. Glukosinoláty – biologicky aktivní látky v čeledi brukvovitých. *Víš co již?* [online] [vid. 2024-03-05]. Dostupné z: <https://www.viscojis.cz/index.php/vyziva/vyziva-zajimavosti/965-glukosinolaty-biologicky-aktivni-latky-v-celedi-brukvovitych>
- LAPERCHE, A., Y. AIGU, M. JUBAULT, M. OLLIER, S. GUICHARD, P. GLORY, S. E. STRELKOV, A. GRAVOT a M. J. MANZANARES-DAULEUX, 2017. Clubroot resistance QTL are modulated by nitrogen input in *Brassica napus*. *TAG. Theoretical and applied genetics. Theoretische und angewandte Genetik* [online]. **130**(4), 669–684. ISSN 1432-2242. Dostupné z: doi:10.1007/s00122-016-2842-8

- LI, J., J. PHILP, J. LI, Y. WEI, H. LI, K. YANG, M. RYDER, R. TOH, Y. ZHOU, M. D. DENTON, J. HU a Y. WANG, 2020. Trichoderma harzianum Inoculation Reduces the Incidence of Clubroot Disease in Chinese Cabbage by Regulating the Rhizosphere Microbial Community. *Microorganisms* [online]. **8**(9), 1325 [vid. 2024-04-08]. ISSN 2076-2607. Dostupné z: doi:10.3390/microorganisms8091325
- LIU, L., L. QIN, Z. ZHOU, W. HENDRIKS, S. LIU a Y. WEI, 2020. Refining the Life Cycle of Plasmodiophora brassicae. *Phytopathology*® [online]. **110**(10), 1704–1712 [vid. 2024-01-22]. ISSN 0031-949X. Dostupné z: doi:10.1094/PHYTO-02-20-0029-R
- LUDWIG-MÜLLER, J., U. BENDEL, P. THERMANN, M. RUPPEL, E. EPSTEIN a W. HILGENBERG, 1993. Concentrations of indole-3-acetic acid in plants of tolerant and susceptible varieties of Chinese cabbage infected with Plasmodiophora brassicae Woron. *New Phytologist* [online]. **125**(4), 763–769 [vid. 2024-01-10]. ISSN 1469-8137. Dostupné z: doi:10.1111/j.1469-8137.1993.tb03926.x
- LUDWIG-MÜLLER, J., R. N. BENNETT, G. KIDDLE, S. IHMIG, M. RUPPEL a W. HILGENBERG, 1999. The host range of Plasmodiophora brassicae and its relationship to endogenous glucosinolate content. *New Phytologist* [online]. **141**(3), 443–458 [vid. 2023-02-11]. ISSN 1469-8137. Dostupné z: doi:10.1046/j.1469-8137.1999.00368.x
- LUDWIG-MÜLLER, J., S. JÜLKE, K. GEISS, F. RICHTER, A. MITHÖFER, I. ŠOLA, G. RUSAK, S. KEENAN a S. BULMAN, 2015. A novel methyltransferase from the intracellular pathogen Plasmodiophora brassicae methylates salicylic acid. *Molecular Plant Pathology* [online]. **16**(4), 349–364. ISSN 1364-3703. Dostupné z: doi:10.1111/mpp.12185
- LUDWIG-MÜLLER, J., E. PRINSEN, S. A. ROLFE a J. D. SCHOLE, 2009. Metabolism and Plant Hormone Action During Clubroot Disease. *Journal of Plant Growth Regulation* [online]. **28**(3), 229–244 [vid. 2024-03-09]. ISSN 1435-8107. Dostupné z: doi:10.1007/s00344-009-9089-4
- LUDWIG-MÜLLER, J., B. SCHUBERT, K. PIEPER, S. IHMIG a W. HILGENBERG, 1997. Glucosinolate content in susceptible and resistant chinese cabbage varieties during development of clubroot disease. *Phytochemistry* [online]. **44**(3), 407–414 [vid. 2024-01-10]. ISSN 0031-9422. Dostupné z: doi:10.1016/S0031-9422(96)00498-0
- MACFARLANE, I., 1970. Germination of resting spores of Plasmodiophora brassicae. *Transactions of the British Mycological Society* [online]. **55**(1), 97–112 [vid. 2024-01-23]. ISSN 0007-1536. Dostupné z: doi:10.1016/S0007-1536(70)80100-0
- MALINOWSKI, R., J. A. SMITH, A. J. FLEMING, J. D. SCHOLE a S. A. ROLFE, 2012. Gall formation in clubroot-infected Arabidopsis results from an increase in existing meristematic activities of the host but is not essential for the completion of the pathogen life cycle. *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology* [online]. **71**(2), 226–238. ISSN 1365-313X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-313X.2012.04983.x
- MALKA, S. K. a Y. CHENG, 2017. Possible Interactions between the Biosynthetic Pathways of Indole Glucosinolate and Auxin. *Frontiers in Plant Science* [online]. **8** [vid. 2024-01-10]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2017.02131>

- MARŠIĆ, N., K. S. MOŽE, R. MIHELIČ, M. NEČEMER, M. HUDINA a J. JAKOPIČ, 2021. Nitrogen and Sulphur Fertilisation for Marketable Yields of Cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *Capitata*), Leaf Nitrate and Glucosinolates and Nitrogen Losses Studied in a Field Experiment in Central Slovenia. *Plants* [online]. **10**(7), 1304 [vid. 2024-03-23]. ISSN 2223-7747. Dostupné z: doi:10.3390/plants10071304
- MARTINEZ-BALLESTA, M. C. a M. CARVAJAL, 2015. Myrosinase in Brassicaceae: the most important issue for glucosinolate turnover and food quality. *Phytochemistry Reviews* [online]. **14**(6), 1045–1051 [vid. 2024-03-06]. ISSN 1572-980X. Dostupné z: doi:10.1007/s11101-015-9430-4
- MUIRHEAD, K. a E. PÉREZ-LÓPEZ, 2022. Plasmodiophora brassicae CBM18 Proteins Bind Chitin and Suppress Chitin-Triggered Immunity. *PhytoFrontiers<sup>TM</sup>* [online]. **2**(1), 21–29 [vid. 2024-03-09]. ISSN 2690-5442. Dostupné z: doi:10.1094/PHYTOFR-04-21-0032-R
- NAIKI, T., Ch. KAWAGUCHI a H. IKEGAMI, 1984. Root Hair Reinfection in Chinese Cabbage Seedlings by the secondary Zoospores of *Plasmodiophora brassicae* Woronin. *Japanese Journal of Phytopathology* [online]. **50**(2), 216–220. Dostupné z: doi:10.3186/jjphytopath.50.216
- NOVÁK, J. a M. SKALICKÝ, 2017. *Botanika: cytologie, histologie, organologie a systematika - 4. ed.* ISBN 978-80-7568-036-5.
- P. H. WILLIAMS, 1966. A system for the determination of races of *Plasmodiophora brassicae* that infect Cabbage and Rutabaga. *Phytopathology* [online]. **56**(6), 624–626 [vid. 2024-03-23]. ISSN 1943-7684. Dostupné z: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19661105237>
- PALM, E. T., 1963. Effect of mineral nutrition on the invasion and response of Turnip tissue to *Plasmodiophora brassicae* Wor. *Contributions. Boyce Thompson Institute for Plant Research* [online]. **22**(2), 91–112 [vid. 2024-04-13]. Dostupné z: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19641101187>
- PANG, W., Y. LIANG, Z. ZHAN, X. LI a Z. PIAO, 2020. Development of a Sinitic Clubroot Differential Set for the Pathotype Classification of *Plasmodiophora brassicae*. *Frontiers in Plant Science* [online]. **11** [vid. 2024-03-24]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2020.568771
- PATAR, U. R., M. MANASOVA, J. HNATEK, J. WENZLOVA a M. ZOUHAR, 2023. Evaluation of Ethanedinitrile as a Potential Fumigant against *Plasmodiophora brassicae*, the Clubroot Pathogen. *Agronomy* [online]. **13**(4), 1177 [vid. 2024-04-03]. ISSN 2073-4395. Dostupné z: doi:10.3390/agronomy13041177
- PENG, G., R. LAHLALI, S.-F. HWANG, D. PAGEAU, R. K. HYNES, M. R. MCDONALD, B. D. GOSSEN a S. STRELKOV, 2014. Crop rotation, cultivar resistance, and fungicides/biofungicides for managing clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) on canola. *Canadian Journal of Plant Pathology* [online]. **36**(sup1), 99–112 [vid. 2024-04-03]. ISSN 0706-0661. Dostupné z: doi:10.1080/07060661.2013.860398

PÉREZ-LÓPEZ, E., M. M. HOSSAIN, J. TU, M. WALDNER, Ch. TODD, A. J. KUSALIK, Y. WEI a P. C. BONHAM-SMITH, 2020. Transcriptome Analysis Identifies Plasmodiophora brassicae Secondary Infection Effector Candidates. *The Journal of Eukaryotic Microbiology* [online]. **67**(3), 337–351 [vid. 2024-03-25]. ISSN 1066-5234. Dostupné z: doi:10.1111/jeu.12784

PÉREZ-LÓPEZ, E., M. M. HOSSAIN, Y. WEI, Ch. D. TODD a P. C. BONHAM-SMITH, 2021. A clubroot pathogen effector targets cruciferous cysteine proteases to suppress plant immunity. *Virulence* [online]. **12**(1), 2327–2340 [vid. 2024-03-25]. ISSN 2150-5594. Dostupné z: doi:10.1080/21505594.2021.1968684

POLÁKOVÁ, J., T. LOŠÁK, J. HLUŠEK, L. DUCSAY, L. VARGA a P. ČERMÁK, 2019. Zásadní poznatky k výživě a hnojení zeleniny. *Zahradnictví - časopis profesionálních zahradníků* [online]. **2019**(5) [vid. 2024-03-23]. Dostupné z: <https://zahradaweb.cz/zasadni-poznatky-k-vyzive-a-hnojeni-zeleniny/>

PREROSTOVA, S., P. I. DOBREV, V. KONRADYOVA, V. KNIRSCH, A. GAUDINOVA, B. KRAMNA, J. KAZDA, J. LUDWIG-MÜLLER a R. VANKOVA, 2018. Hormonal Responses to Plasmodiophora brassicae Infection in Brassica napus Cultivars Differing in Their Pathogen Resistance. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **19**(12), 4024 [vid. 2024-03-25]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms19124024

RAZA, A., M. B. HAFEEZ, N. ZAHRA, K. SHAUKAT, S. UMBREEN, J. TABASSUM, S. CHARAGH, R. S. A. KHAN a M. HASANUZZAMAN, 2020. The Plant Family Brassicaceae: Introduction, Biology, And Importance. In: M. HASANUZZAMAN, ed. *The Plant Family Brassicaceae: Biology and Physiological Responses to Environmental Stresses* [online]. Singapore: Springer, s. 1–43 [vid. 2024-01-25]. ISBN 9789811563454. Dostupné z: doi:10.1007/978-981-15-6345-4\_1

REGISTR HNOJIV, 2020. GLIOREX. *eAGRI* [online] [vid. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://eagri.cz/public/app/eagriapp2/RHPub/Detail?guid=2454a3dc-90bb-b33a-e054-5e27f93817de>

REGISTR PŘÍPRAVKŮ NA OCHRANU ROSTLIN, 2020. Serenade ASO. *eAGRI* [online] [vid. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Detail.aspx?id=34007%20%20%20%20&stamp=1712595863867>

REN, Li, Li XU, Fan LIU, Kunrong CHEN, Chaochao SUN, Jun LI a Xiaoping FANG, 2016. Host Range of Plasmodiophora brassicae on Cruciferous Crops and Weeds in China. *Plant Disease* [online]. **100**(5), 933–939 [vid. 2023-02-11]. ISSN 0191-2917. Dostupné z: doi:10.1094/PDIS-09-15-1082-RE

RENNIE, D. C., Michael D. HOLTZ, T. K. TURKINGTON, J. M. LEBOLDUS, S.-F. HWANG, R. J. HOWARD a S. E. STRELKOV, 2015. Movement of Plasmodiophora brassicae resting spores in windblown dust. *Canadian Journal of Plant Pathology* [online]. **37**(2), 188–196 [vid. 2024-04-03]. ISSN 0706-0661. Dostupné z: doi:10.1080/07060661.2015.1036362



- RICHTER, R., HŘIVNA, L., RYANT, P., a HRŮZA, M., 2010. Optimální výživný stav rostlin řepky je základem vysoké a kvalitní produkce. In: *Prosperující olejniny: Agricultura - Scientia - Prosperitas* [online]. Praha; Větrný Jeníkov: Česká zemědělská univerzita v Praze, katedra rostlinné výroby, s. 166 s. ISBN ISBN 978-80-213-2128-1. Dostupné z: [http://konference.agrobiologie.cz/2010-12-09/Komplet-Thomson/2010\\_Olejniny.pdf](http://konference.agrobiologie.cz/2010-12-09/Komplet-Thomson/2010_Olejniny.pdf)
- ROD, J., 1993. Nádorovitost kořenů brukvovitých rostlin [online]. **41**(3) [vid. 2024-01-15]. ISSN ISSN 0044-4812. Dostupné z: <https://ndk.cz/view/uuid:b48f69ee-435d-11dd-b505-00145e5790ea?page=uuid:102a8080-0697-11e9-bc37-005056827e51>
- ROD, J., 1996. Zprávy - původce nádorovitosti brukvovitých plodin. **1996**(37), zvláštní číslo, s. 45.
- ROLFE, S. A., S. STRELKOV, M. G. LINKS, W. E. CLARKE, S. J. ROBINSON, M. DJAVAHARI, R. MALINOWSKI, P. HADDADI, S. KAGALE, I. A. P. PARKIN, A. TAHERI a M. H. BORHAN, 2016. The compact genome of the plant pathogen *Plasmodiophora brassicae* is adapted to intracellular interactions with host *Brassica* spp. *BMC Genomics* [online]. **17**, 272 [vid. 2024-03-25]. ISSN 1471-2164. Dostupné z: doi:10.1186/s12864-016-2597-2
- ROSTLINOLÉKAŘSKÝ PORTÁL, 2024. Nádorovitost kořenů brukvovitých. *ÚKZUZ* [online] [vid. 2023-02-11]. Dostupné z: [https://eagri.cz/public/app/srs\\_pub/fytoportal/public/?key=%22f50546d2ac767ccc6ca48bbc1a083aac%22#rlp|so|choroby|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c2b38ee|popis](https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22f50546d2ac767ccc6ca48bbc1a083aac%22#rlp|so|choroby|detail:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c2b38ee|popis)
- RSTUDIO TEAM, 2022. *RStudio: Integrated Development Environment for R* [online]. 2022. Boston: RStudio, PBC. [vid. 2024-03-25]. Dostupné z: <https://www.rstudio.com/>
- RYŠÁNEK, P., L. GRIMOVÁ, J. CHRPOVÁ a T. SUMÍKOVÁ, 2016. *MANAGEMENT OBILNÝCH VIRŮ PŘENOSNÝCH Polymyxa graminis S DŮRAZEM NA VIRY MOZAIKOVÉHO KOMPLEXU JEČMENE | Metodiky* [online]. Praha: PROJEKT: NAZV. Č. QJ1230159 [vid. 2024-04-02]. ISBN ISBN 978-80-213-2723-8. Dostupné z: <https://metodiky.agrobiologie.cz/management-obilnych-viru-prenosnych-polymyxa-graminis-s-durazem-na-viry-mozaikoveho-komplexu-jecmene/>
- ŘIČAŘOVÁ, V., J. KACZMAREK, S. E. STRELKOV, J. KAZDA, W. LUEDERS, P. RYSANEK, V. MANOLII a M. JEDRYCZKA, 2016. Pathotypes of *Plasmodiophora brassicae* causing damage to oilseed rape in the Czech Republic and Poland. *European Journal of Plant Pathology* [online]. **145**(3), 559–572 [vid. 2024-04-02]. ISSN 1573-8469. Dostupné z: doi:10.1007/s10658-016-0939-1
- ŘIČAŘOVÁ, V., J. VOSPĚLOVÁ a J. KAZDA, 2017. *Možnosti pěstování řepky olejky v zemědělských podnicích s výskytem půdního patogena* [online]. Praha. Uplatněná certifikovaná metodika pro praxi. Česká zemědělská univerzita v Praze FAPPZ. Dostupné z: [https://www.cazv.cz/wp-content/uploads/2019/05/03\\_PESTOVANI\\_REPKY\\_PLASMODIOPHORA\\_BRASSICAE.pdf](https://www.cazv.cz/wp-content/uploads/2019/05/03_PESTOVANI_REPKY_PLASMODIOPHORA_BRASSICAE.pdf)

- SAHARAN, G. S., N. K. MEHTA a P. D. MEENA, 2021a. Biochemistry of Host–Pathogen Interaction. In: G. S. SAHARAN, N. K. MEHTA a P. D. MEENA, ed. *Clubroot Disease of Crucifers: Biology, Ecology and Disease Management* [online]. Singapore: Springer, s. 417–447 [vid. 2024-04-08]. ISBN 9789811621338. Dostupné z: doi:10.1007/978-981-16-2133-8\_10
- SAHARAN, G. S., N. K. MEHTA a P. D. MEENA, 2021b. Pathogenic Variability. In: G. S. SAHARAN, N. K. MEHTA a P. D. MEENA, ed. *Clubroot Disease of Crucifers: Biology, Ecology and Disease Management* [online]. Singapore: Springer, s. 159–232 [vid. 2024-03-26]. ISBN 9789811621338. Dostupné z: doi:10.1007/978-981-16-2133-8\_5
- SAHARAN, G. S., N. K. MEHTA a P. D. MEENA, 2021c. The Pathogen: Plasmodiophora brassicae. In: G. S. SAHARAN, N. K. MEHTA a P. D. MEENA, ed. *Clubroot Disease of Crucifers: Biology, Ecology and Disease Management* [online]. Singapore: Springer, s. 87–120 [vid. 2024-03-09]. ISBN 9789811621338. Dostupné z: doi:10.1007/978-981-16-2133-8\_3
- SALADIÉ, M., J. K. C. ROSE, D. J. COSGROVE a C. CATALÁ, 2006. Characterization of a new xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase (XTH) from ripening tomato fruit and implications for the diverse modes of enzymic action. *The Plant Journal* [online]. **47**(2), 282–295 [vid. 2024-01-11]. ISSN 1365-313X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-313X.2006.02784.x
- SHERF, A. F. a A. A. MACNAB, 1986. *Vegetable Diseases and Their Control*. B.m.: John Wiley & Sons. ISBN 978-0-471-05860-1.
- SHOGO Y., SHUHEI T., MITSURO K.-I. a KEN K., 1991. Relation of Ca<sup>2+</sup> Efflux to Germination of Resting Spores of Clubroot Fungus. *Bulletin of the Faculty of Agriculture* [online]. 39. vyd. 105–112 [vid. 2024-01-23]. ISSN 0513-1715. Dostupné z: <https://petit.lib.yamaguchi-u.ac.jp/14672>
- SCHOCH, C. L., S. CIUFO, M. DOMRACHEV, C. L. HOTTON, S. KANNAN, R. KHOVANSKAYA, D. LEIPE, R. MCVEIGH, K. O'NEILL, B. ROBBERTSE, S. SHARMA, V. SOUSSOV, J. P. SULLIVAN, L. SUN, S. TURNER a I. KARSCH-MIZRACHI, 2020. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. *Database* [online]. **2020**, baaa062 [vid. 2024-03-09]. ISSN 1758-0463. Dostupné z: doi:10.1093/database/baaa062
- SCHULLER, A., J. KEHR a J. LUDWIG-MÜLLER, 2014. Laser Microdissection Coupled to Transcriptional Profiling of Arabidopsis Roots Inoculated by Plasmodiophora brassicae Indicates a Role for Brassinosteroids in Clubroot Formation. *Plant and Cell Physiology* [online]. **55**(2), 392–411 [vid. 2024-03-25]. ISSN 0032-0781. Dostupné z: doi:10.1093/pcp/pct174
- SCHWELM, A., J. BADSTÖBER, S. BULMAN, N. DESOIGNIES, M. ETEMADI, R. FALLOON, C. GACHON, A. LEGRÈVE, J. LUKEŠ, U. MERZ, A. NENAROKOVA, M. STRITTMATTER, B. SULLIVAN a S. NEUHAUSER, 2017. Not in your usual Top 10 – protists that infect plants and algae. *Molecular Plant Pathology* [online]. **19**. Dostupné z: doi:10.1111/mpp.12580

- SCHWELM, A., J. FOGELQVIST, A. KNAUST, S. JÜLKE, T. LILJA, G. BONILLA-ROSSO, M. KARLSSON, A. SHEVCHENKO, V. DHANDAPANI, S. R. CHOI, H. G. KIM, J. Y. PARK, Y. P. LIM, J. LUDWIG-MÜLLER a Ch. DIXELIUS, 2015. The Plasmodiophora brassicae genome reveals insights in its life cycle and ancestry of chitin synthases. *Scientific Reports* [online]. **5**, 11153 [vid. 2024-03-26]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/srep11153
- SIEMENS, J., M. NAGEL, J. LUDWIG-MÜLLER a M. D. SACRISTÁN, 2002. The Interaction of Plasmodiophora brassicae and Arabidopsis thaliana: Parameters for Disease Quantification and Screening of Mutant Lines. *Journal of Phytopathology* [online]. **150**(11–12), 592–605 [vid. 2024-01-10]. ISSN 1439-0434. Dostupné z: doi:10.1046/j.1439-0434.2002.00818.x
- SOMÉ, A., MANZANARES, M.J., LAURENS, F., BARON, F., THOMAS, G., a ROUXEL, F., 1996. Variation for virulence on Brassica napus L. amongst Plasmodiophora brassicae collections from France and derived single-spore isolates. *Plant Pathology* [online]. (45), 432–439 [vid. 2024-03-23]. Dostupné z: <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365-3059.1996.d01-155.x>
- STATSOFT, 2017. *Statistica 12*. 2017. Praha: StatSoft Inc. 1984-2013 s.r.o.
- STEFANOWICZ, K., M. SZYMANSKA-CHARGOT, W. TRUMAN, P. WALEROWSKI, M. OLSZAK, A. AUGUSTYNIAK, A. KOSMALA, A. ZDUNEK a R. MALINOWSKI, 2021. Plasmodiophora brassicae-Triggered Cell Enlargement and Loss of Cellular Integrity in Root Systems Are Mediated by Pectin Demethylation. *Frontiers in Plant Science* [online]. **12** [vid. 2024-04-07]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2021.711838
- STRELKOV, S. E., S.-F. HWANG, V. P. MANOLII, T. CAO, R. FREDUA-AGYEMAN, M. W. HARDING, G. PENG, B. D. GOSSEN, M. R. MCDONALD a D. FEINDEL, 2018. Virulence and pathotype classification of Plasmodiophora brassicae populations collected from clubroot resistant canola (Brassica napus) in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology* [online]. **40**(2), 284–298 [vid. 2024-03-23]. ISSN 0706-0661. Dostupné z: doi:10.1080/07060661.2018.1459851
- STRELKOV, S.E., J.P. TEWARI a E. SMITH-DEGENHARDT, 2006. Characterization of Plasmodiophora brassicae populations from Alberta, Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology* [online]. **28**(3), 467–474 [vid. 2024-04-02]. ISSN 0706-0661. Dostupné z: doi:10.1080/07060660609507321
- STRUCK, Ch., S. RÜSCH a B. STREHLOW, 2022. Control Strategies of Clubroot Disease Caused by Plasmodiophora brassicae. *Microorganisms* [online]. **10**(3), 620 [vid. 2024-03-09]. ISSN 2076-2607. Dostupné z: doi:10.3390/microorganisms10030620
- TAKAHASHI, K., 1994. Influences of Some Environmental Factors on the Viability of Resting Spores of Plasmodiophora brassicae Wor. Incubated in Sterile Soil. *Japanese Journal of Phytopathology* [online]. **60**(6), 658–666. Dostupné z: doi:10.3186/jjphytopath.60.658
- TEWARI, J. P., S. E. STRELKOV, D. ORCHARD, M. HARTMAN, R. M. LANGE a T. K. TURKINGTON, 2005. Identification of clubroot of crucifers on canola (Brassica napus) in Alberta. *Canadian Journal of Plant Pathology* [online]. **27**(1), 143–144 [vid. 2024-04-02]. ISSN 0706-0661. Dostupné z: doi:10.1080/07060660509507206

- TIAN, X., D. WANG, Z. MAO, L. PAN, J. LIAO a Z. CAI, 2019. Infection of *Plasmodiophora brassicae* changes the fungal endophyte community of tumorous stem mustard roots as revealed by high-throughput sequencing and culture-dependent methods. *PLoS ONE* [online]. **14**(6), e0214975 [vid. 2024-03-09]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0214975
- TRIPATHI, R., R. TEWARI, K. P. SINGH, Ch. KESWANI, T. MINKINA, A. SRIVASTAVA, U. DE CORATO a E. SANSINENEA, 2022. Plant mineral nutrition and disease resistance: A significant linkage for sustainable crop protection. *Frontiers in Plant Science* [online]. **13**, 883970 [vid. 2024-03-23]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2022.883970
- TSO, H. H., L. GALINDO-GONZÁLEZ, T. LOCKE a S. E. STRELKOV, 2022. Protocol: rhPCR and SNaPshot assays to distinguish *Plasmodiophora brassicae* pathotype clusters. *Plant Methods* [online]. **18**(1), 91 [vid. 2024-03-23]. ISSN 1746-4811. Dostupné z: doi:10.1186/s13007-022-00923-w
- TSUDA, K., 2018. Division of Tasks: Defense by the Spatial Separation of Antagonistic Hormone Activities. *Plant and Cell Physiology* [online]. **59**(1), 3–4 [vid. 2024-01-11]. ISSN 0032-0781. Dostupné z: doi:10.1093/pcp/pcx208
- USDA, 2024. World Agricultural Production. *Foreign Agricultural Service USDA* [online] [vid. 2024-04-02]. Dostupné z: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>
- VANĚK, V., J. BALÍK, J. ČERNÝ, M. PAVLÍK, D. PAVLÍKOVÁ, P. TLUSTOŠ a J. VALTERA, 2012. *Výživa zahradních rostlin*. 1. Praha: Academia. ISBN ISBN 978-80-200-2147-2.
- VANĚK, V., J. BALÍK, M. PAVLÍK, D. PAVLÍKOVÁ a P. TLUSTOŠ, 2016. *Výživa a hnojení polních plodin*. 1. Praha: Profi Press. ISBN ISBN 978-80-86726-79-3.
- VELÍŠEK, J., 2002a. *Chemie potravin 2*. 2. upravené. Tábor: OSSIS. ISBN ISBN 80-86659-01-1.
- VELÍŠEK, J., 2002b. *Chemie potravin 3* [online]. Tábor: OSSIS [vid. 2023-12-01]. ISBN ISBN 80-86659-02-X. Dostupné z: <https://ndk.cz/uuid/uuid:cb68a9e2-02c1-4aa4-906b-e55573e6f774>
- VIK, D., N. MITARAI, N. WULFF, B. A. HALKIER a M. BUROW, 2018. Dynamic Modeling of Indole Glucosinolate Hydrolysis and Its Impact on Auxin Signaling. *Frontiers in Plant Science* [online]. **9** [vid. 2024-01-10]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2018.00550>
- WAGNER, A. E. a G. RIMBACH, 2009. Ascorbigen: chemistry, occurrence, and biologic properties. *Clinics in Dermatology* [online]. **27**(2), Neutraceuticals: Part II, 217–224 [vid. 2024-04-08]. ISSN 0738-081X. Dostupné z: doi:10.1016/j.clindermatol.2008.01.012
- WALLENHAMMAR, A.-C., 2010. MONITORING AND CONTROL OF PLASMODIOPHORA BRASSICAE IN SPRING OILSEED BRASSICA CROPS. *Acta Horticulturae* [online]. (867), 181–190 [vid. 2024-01-23]. ISSN 0567-7572, 2406-6168. Dostupné z: doi:10.17660/ActaHortic.2010.867.23

- WORONIN, M. S., 1877. Plasmodiophora brassicae, der Organismus, der die unter dem Namen Hernie bekannte Krankheit der Kohlpflanzen verursacht. *Arbeiten der Sankt Petersburger Naturforschender Gesellschaft*. (8), 169–201.
- XU, L., H. YANG, L. REN, W. CHEN, L. LIU, F. LIU, L. ZENG, R. YAN, K. CHEN a X. FANG, 2018. Jasmonic Acid-Mediated Aliphatic Glucosinolate Metabolism Is Involved in Clubroot Disease Development in Brassica napus L. *Frontiers in Plant Science* [online]. **9**, 750 [vid. 2024-03-13]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2018.00750
- YANG, X.-X., X.-Q. HUANG, W.-X. WU, Y.-J. XIANG, L. DU, L. ZHANG a Y. LIU, 2020. Effects of different rotation patterns on the occurrence of clubroot disease and diversity of rhizosphere microbes. *Journal of Integrative Agriculture* [online]. **19**(9), 2265–2273 [vid. 2024-04-03]. ISSN 2095-3119. Dostupné z: doi:10.1016/S2095-3119(20)63186-0
- ZAHR, K., A. SARKES, Y. YANG, H. AHMED, Q. ZHOU, D. FEINDEL, M. W. HARDING a J. FENG, 2021. Plasmodiophora brassicae in Its Environment: Effects of Temperature and Light on Resting Spore Survival in Soil. *Phytopathology* [online]. **111**(10), 1743–1750. ISSN 0031-949X. Dostupné z: doi:10.1094/PHYTO-09-20-0415-R
- ZAMANI-NOOR, N., A.-Ch. WALLENHAMMAR, J. KACZMAREK, U. R. PATAR, M. ZOUHAR, M. MANASOVA a M. JĘDRYCZKA, 2022. Pathotype Characterization of Plasmodiophora brassicae, the Cause of Clubroot in Central Europe and Sweden (2016–2020). *Pathogens* [online]. **11**(12), 1440 [vid. 2024-03-09]. ISSN 2076-0817. Dostupné z: doi:10.3390/pathogens11121440
- ZENG, L., Y. ZHANG, Y. WU, X. ZHANG, Ch. ZHAO, L. REN, J. HUANG, X. CHENG, S. LIU a L. LIU, 2023. Pathotype characterization of Plasmodiophora brassicae by European Clubroot Differential and Williams sets in China. *Plant Disease* [online]. ISSN 0191-2917. Dostupné z: doi:10.1094/PDIS-08-23-1571-SC
- ZHANG, L., Z. LIU, Y. SONG, J. SUI a X. HUA, 2024. Advances in the Involvement of Metals and Metalloids in Plant Defense Response to External Stress. *Plants* [online]. **13**(2), 313 [vid. 2024-04-07]. ISSN 2223-7747. Dostupné z: doi:10.3390/plants13020313
- ZHAO, Y., X. CHEN, J. CHENG, J. XIE, Y. LIN, D. JIANG, Y. FU a T. CHEN, 2022. Application of Trichoderma Hz36 and Hk37 as Biocontrol Agents against Clubroot Caused by Plasmodiophora brassicae. *Journal of Fungi* [online]. **8**(8), 777 [vid. 2024-04-08]. ISSN 2309-608X. Dostupné z: doi:10.3390/jof8080777
- ZHU, M., Y. HE, Y. LI, T. REN, H. LIU, J. HUANG, D. JIANG, T. HSIANG a L. ZHENG, 2020. Two New Biocontrol Agents Against Clubroot Caused by Plasmodiophora brassicae. *Frontiers in Microbiology* [online]. **10**, 3099 [vid. 2024-04-08]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2019.03099

## 9 Seznam použitých zkratek a symbolů

- ABG – askorbigen  
CDD – Kanadská diferenciální sada nádorovitosti košťálovin  
CNN – konvoluční neutronové síť  
ČR – Česká republika  
ČZU – Česká zemědělská univerzita v Praze  
DAM – kapalné dusíkaté hnojivo (roztok dusičnanu amonného a močoviny)  
DNA – deoxyribonukleová kyselina  
EDC – Evropská diferenciální sada nádorovitosti košťálovin  
EDN – ethanedinitril  
FAPPZ – Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů  
GLS – glukosinoláty, thioglikosidy  
IAA – auxin  
ID – index napadení  
ITS – internální transkripční sekvence  
JA – kyselina jasmonová, jasmonát  
LAMP – izotermická amplifikace zprostředkovaná smyčkou  
NCBI – Národní centrum pro biotechnologické informace  
*P. brassicae* – *Plasmodiophora brassicae*  
PCNB – pentachlornitrobenzen  
PCR – polymerázová řetězová reakce  
RNA – ribonukleová kyselina  
SA – kyselina salicylová  
SCD – Sinitická diferenciální sada nádorovitosti košťálovin  
ÚKZÚZ – Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský  
XEH – xyloglukan endotranshydroláza  
XET – xyloglukan endotransglukosyláza  
XTH – xyloglukan endotransglukosylázy/hydrolázy

## 10 Samostatné přílohy

### 10.1 Tabulky

Tabulka 1	Metody detekce vyvinuté ke studiu patogena <i>Plasmodiophora brassicae</i> (Javed et al. 2022). .....	16
Tabulka 2	Názvy a struktura substituentů nejrozšířenějších glukosinolátů (Velíšek 2002b). .....	28
Tabulka 3	Přehled jednotlivých variant a navážky jednotlivých hnojiv. ....	35
Tabulka 4	Celkové množství dodaného dusíku a síry do jednotlivých variant. ....	36
Tabulka 5	Přehled jednotlivých variant – hydroponie. ....	40
Tabulka 6	Index napadení (%) u jednotlivých variant. ....	45
Tabulka 7	Výsledky hydroponického pokusu. ....	50

### 10.2 Grafy

Graf 1	Průměrné váhy kořenů ve variantách (g). ....	43
--------	--	----

### 10.3 Obrázky

Obrázek 1	Životní cyklus <i>Plasmodiophora brassicae</i> : a – odpočívající spora; b – primární zoospora; c – primární plasmodium v kořenovém vlásku; d – shluk zoosporangii v kořenovém vlásku; e – prázne zoosporangium; f,g – sekundární plasmodium v kortikálních buňkách; trvalé spory v kortikálních buňkách (Kageyama a Asano 2009). ....	12
Obrázek 2	Nádorovky ( <i>Phytophthora</i> ). A – (5 μm) infekce hostitele pomocí ‘Rohr (R) a Stachel (S)’, zoospora (Z). B – příznaky nádorovitosti na čínském zelí. C – (20 μm) odpočívající spory <i>P. brassicae</i> (▲), plazmodia (→) a typické vakuoly, které mizí, když se plazmodia začnou diferencovat do odpočívajících spor (*) (Schwelm et al. 2017). ....	14
Obrázek 3	Hodnotící stupnice napadení a vlastní vytvořená stupnice z fotografií z pokusu. Stupně napadení: 0 – bez napadení, 1 – malý nádor na postranních kořenech, 2 – malý až střední nádor na postranním a hlavním kořeni, 3 – velký nádor, hlavní kořen deformován (Ji et al. 2021). .....	38
Obrázek 4	Průměrné hmotnosti nadzemních částí u jednotlivých variant (g). ....	42
Obrázek 5	Transformovaná data váhy kořenů (log) a rozdělení dle homogenních skupin. ....	43
Obrázek 6	Stupně napadení Kruskal-Wallis – krabicový graf. ....	44
Obrázek 7	Histogramy jednotlivých inokulovaných variant. ....	45
Obrázek 8	Živiny v sušině nadzemní hmoty (mg/kg). ....	47
Obrázek 9	Živiny v sušině kořenů (mg/kg). ....	49
Obrázek 10	Založení pokusu v substrátu (16. 11. 2023). ....	III
Obrázek 11	Inokulace <i>P. brassicae</i> (5. 12. 2023). ....	III

Obrázek 12	Neinokulované varianty v den sklizně (17. 1. 2024).....	IV
Obrázek 13	Inokulované varianty v den sklizně (17.1. 2024). ....	V
Obrázek 14	Příklady kořenů v neinokulovaných variantách (vyhodnocení 18.1. 2024). .....	VI
Obrázek 15	Příklady kořenů v inokulovaných variantách (vyhodnocení 18.1. 2024)... .....	VII
Obrázek 16	Založení hydroponického pokusu (25. 7. 2023).....	VIII
Obrázek 17	Inokulace (21. 8. 2023).....	VIII
Obrázek 18	Vyhodnocení neinokulovaných variant – hydroponie (25.9. 2023). ....	IX
Obrázek 19	Vyhodnocení inokulovaných variant – hydroponie (25.9. 2023). ....	X



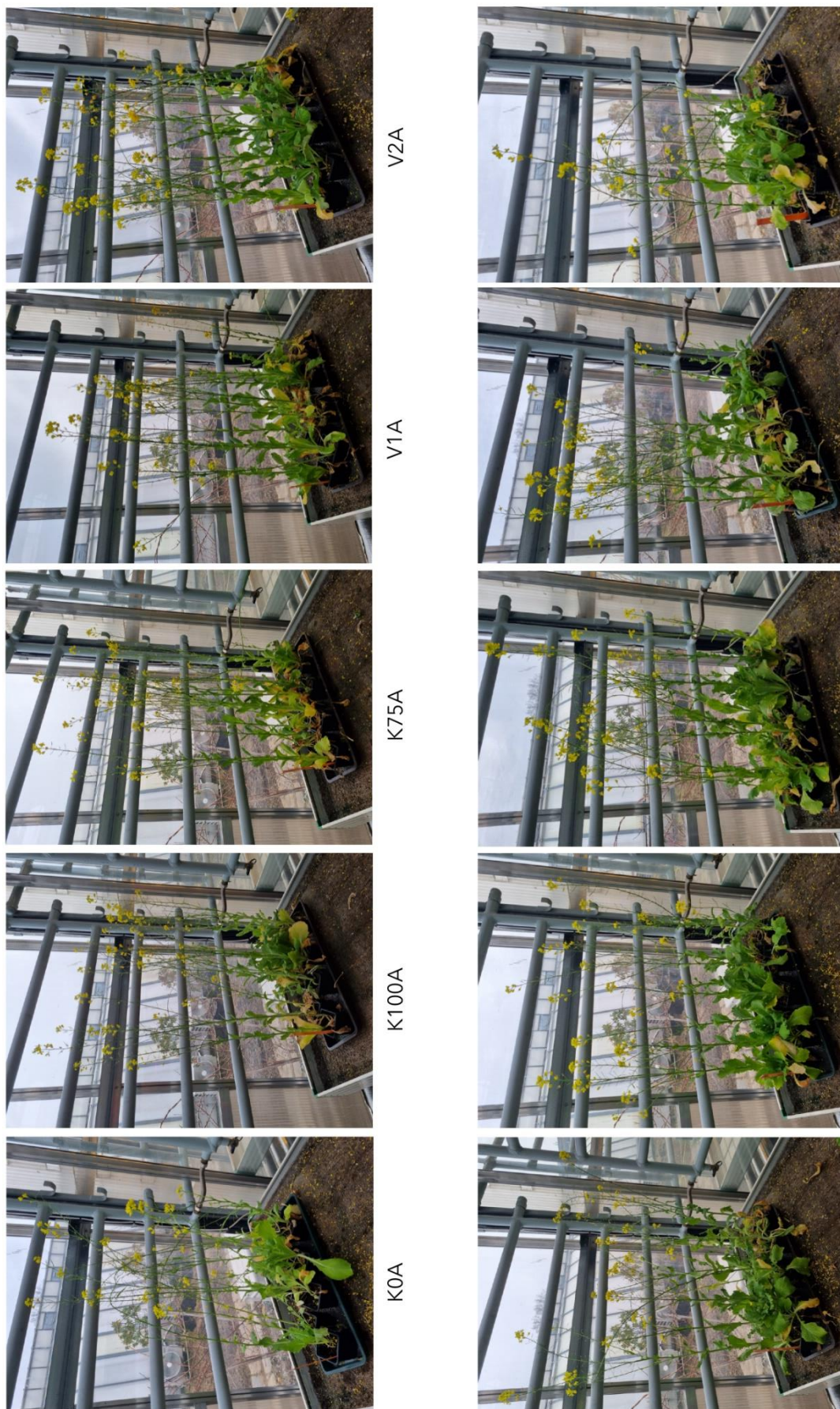


Obrázek 10 Založení pokusu v substrátu (16. 11. 2023).



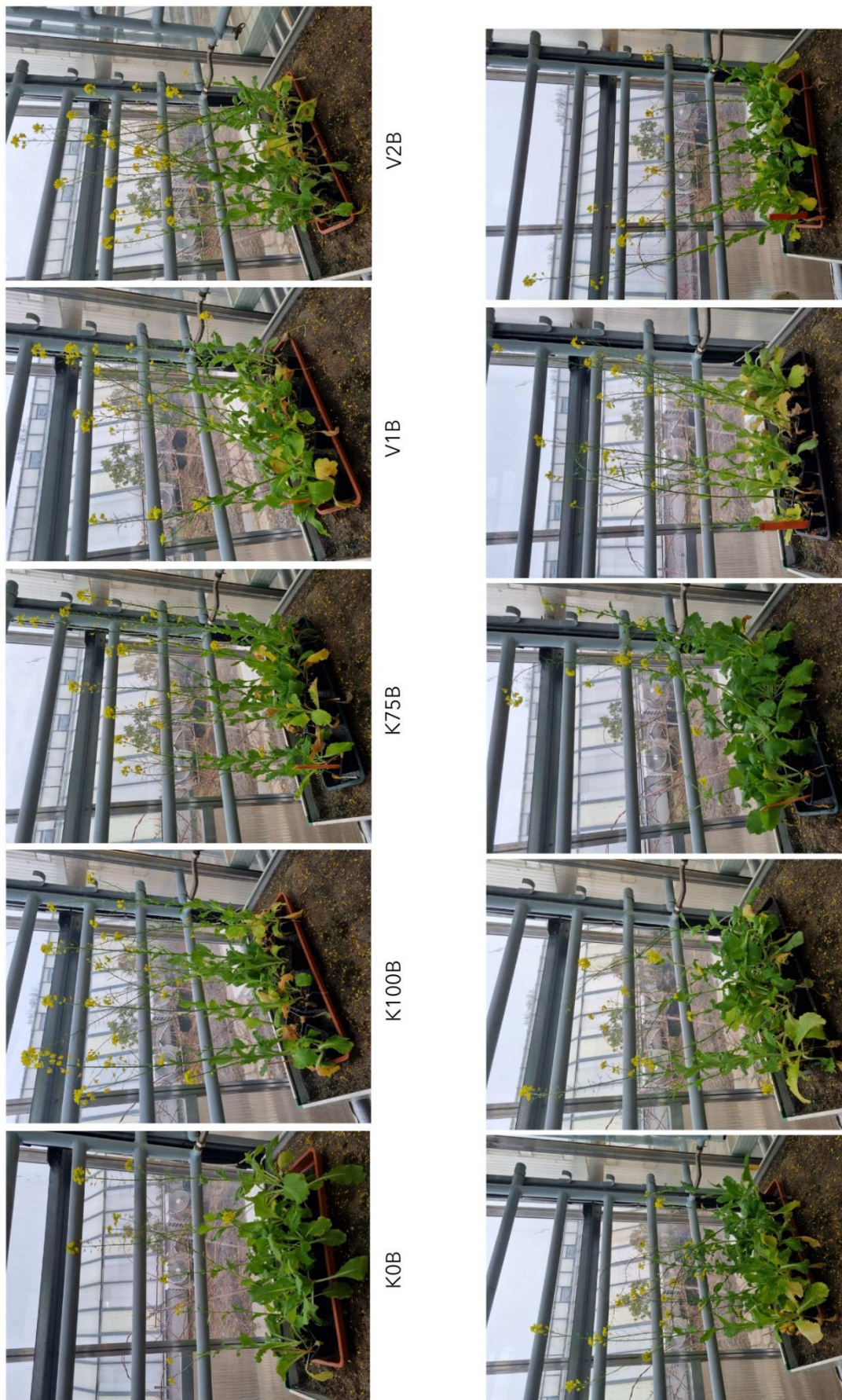
Obrázek 11 Inokulace *P. brassicae* (5. 12. 2023).





Obrázek 12 Neinokulované varianty v den sklizně (17. 1. 2024).





Obrázek 13 Inokulované varianty v den sklizně (17.1. 2024).





Obrázek 14 Příklady kořenů v neinokulovaných variantách (vyhodnocení 18.1. 2024).



Obrázek 15 Příklady kořenů v inokulovaných variantách (vyhodnocení 18.1. 2024).

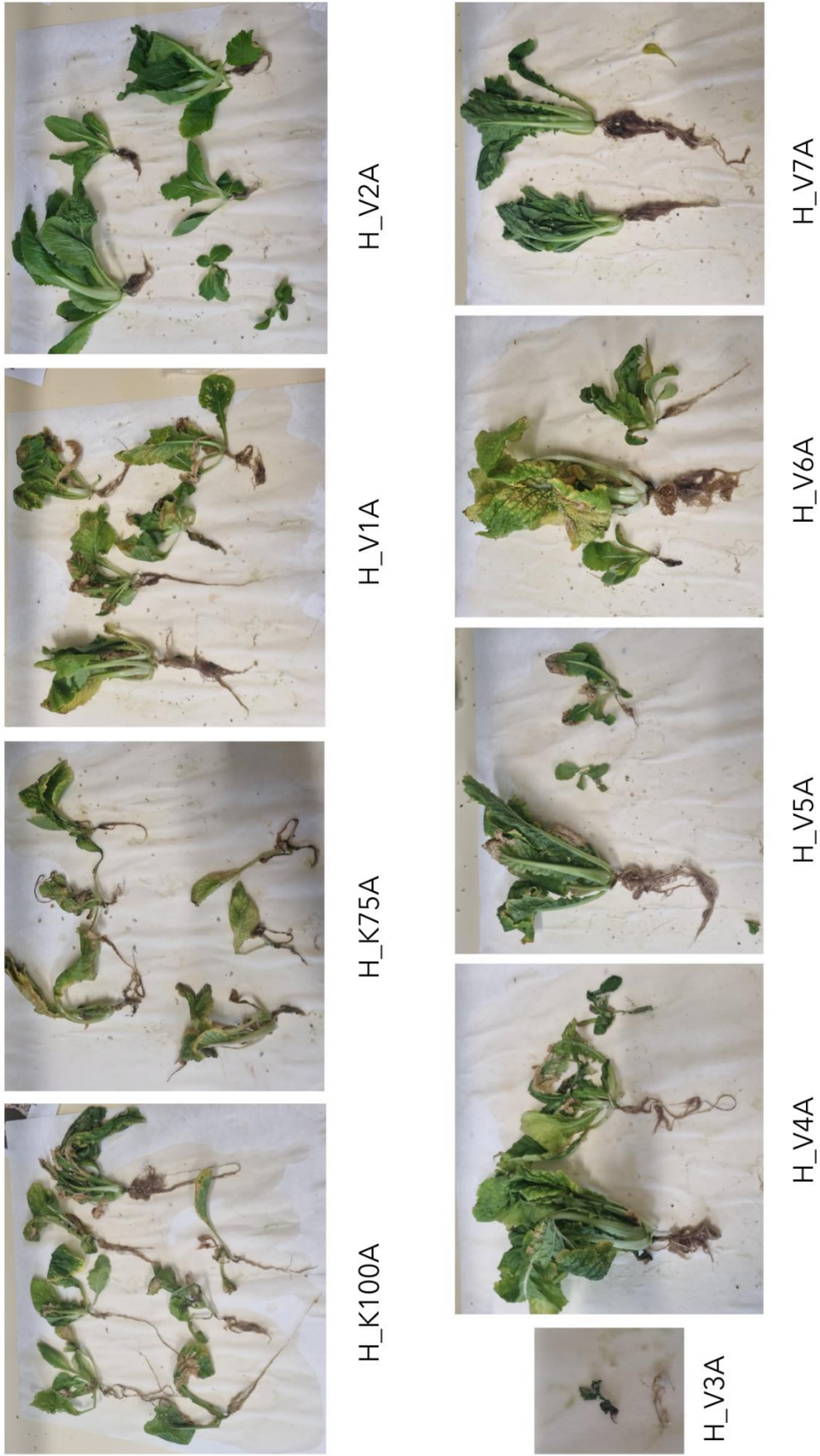




Obrázek 16 Založení hydroponického pokusu (25. 7. 2023).



Obrázek 17 Inokulace (21. 8. 2023).



Obrázek 18 Vyhodnocení neinokulovaných variant – hydroponie (25.9. 2023).





Obrázek 19 Vyhodnocení inokulovaných variant – hydroponie (25.9. 2023).